



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Enterobacterias productoras de β -lactamasas de
espectro extendido en muestras fecales en el Instituto
Nacional de Salud del Niño**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Fabiola Daysi COLQUECHAGUA ALIAGA

ASESORES

Lic. Carlos Raúl SEVILLA ANDRANDE

Mg. Edgar GONZALES ESCALANTE

Lima, Perú

2013



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Colquechagua, F. Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2013.

*Dedicado a Dios
por la vida y todas las
oportunidades concedidas.*

*A mi querida mamita Celia
por ser la mejor madre del mundo
que con su inmenso amor, paciencia
y comprensión, siempre guía mis pasos.*

*A mi papi Teófanés por su cariño, apoyo,
consejos y por esperar pacientemente este día.*

*A mis hermanos Edwin, Maritza, Gladys y Godo
quienes me alentaron y apoyaron en todo momento.*

A mis amados sobrinitos Abner, Kevin, Johan y Akemi.

Agradecimientos

Gracias al Magister Edgar Gonzales Escalante y al Licenciado Carlos Raúl Sevilla Andrade, por su disposición, colaboración, tiempo dedicado en la asesoría, las revisiones, los consejos y el apoyo incondicional brindado, sin ustedes este sueño no se habría hecho realidad, mil gracias.

Gracias al personal del Servicio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño. Gracias Doctora Patiño, Doctor Rito Zerpa, Licenciado Edgar Gonzales, Norhita Cruzado, Elsa Oré, Violeta Martinez, Ivon Carbonell, Silvia Moreno, Roberto Rojas, Carmen Quispe, Giovana Ugarte, Giovana Maza, Raúl Vicuña, Daniel Bustamante, José María Olivo, Jaqui Flores, Rosario Esquivel, Rosario Inocente, Cesar Molina, Maribel Díaz, Sr. Luchito, Sta. Mechita, Judith Beltran, Giovanna Rodriguez y Mari Valdivia. por aceptarme como parte de la familia del Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz” y por brindarme su cariño, confianza y las facilidades para realizar mi tesis, los llevaré siempre presente en mi corazón.

Gracias al personal del Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética de la Sección de Epidemiología del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Gracias Doctor Jorge Alarcón, Doctora Julia Piscoya, Licenciado Raúl Sevilla, Licenciada Maritza Puray, Licenciado Segundo León y a mi querida amiga Ale, quedo eternamente agradecida a todos Uds. por brindarme las recomendaciones, sugerencias y facilidades para la realización de mi tesis.

Gracias Doctor José María Guevara, Licenciado Javier Soto y Magister Jorge Maguiña por las pertinentes recomendaciones, lo que permitió enriquecer el contenido de la tesis.

Gracias a mi linda familia a mis padres, hermanos, tíos, tías, primos y sobrinitos por darme fuerzas para salir siempre adelante.

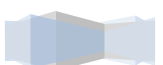
Gracias a los amigos de la Universidad y del trabajo por sus buenos deseos.

**ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO
EXTENDIDO EN MUESTRAS FECALES EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DEL NIÑO**



UNMSM – Tecnología Médica |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.4.2.3. | Inactivación enzimática..... | 28 |
| 3.5. | β -lactamasas..... | 29 |
| 3.5.1. | Clasificación de las β -lactamasas..... | 29 |
| 3.5.2. | β -lactamasas de espectro extendido..... | 32 |
| 3.5.3. | β -lactamasas tipo AmpC..... | 33 |
| 3.6. | Elementos genéticos involucrados en la transmisión... | 34 |
| 3.6.1. | Plásmidos..... | 34 |
| 3.6.2. | Transposones..... | 34 |
| 3.6.3. | Integriones..... | 35 |
| 3.6.4. | Cassettes..... | 35 |
| 3.7. | Detección fenotípica de β -lactamasas de espectro extendido..... | 36 |
| 3.7.1. | Método de screening para detección de BLEE según CLSI 2013..... | 36 |
| 3.7.2. | Test confirmatorio BLEE-CLSI (Método Americano)..... | 37 |
| 3.7.3. | Test confirmatorio BLEE – Método de Jarlier (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología)..... | 37 |
| 3.7.4. | Método de Hodge..... | 37 |
| 3.8. | Importancia de las BLEE en la comunidad..... | 38 |
| 3.9. | Factores que contribuyen la colonización intestinal por enterobacterias productoras de BLEE..... | 39 |



| | |
|-------------------------------------|----|
| IV. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 41 |
| 4.1. Diseño de estudio..... | 41 |
| 4.2. Tipo de investigación..... | 41 |
| 4.3. Población..... | 41 |
| 4.4. Muestra..... | 41 |
| 4.5. Técnicas e instrumentos..... | 42 |
| 4.6. Plan de procedimientos..... | 42 |
| 4.7. Análisis de datos..... | 49 |
| V. RESULTADOS | 50 |
| VI. DISCUSIÓN..... | 56 |
| VII. CONCLUSIONES..... | 62 |
| VIII. RECOMENDACIONES..... | 63 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 64 |
| X. ANEXOS..... | 72 |



RESUMEN

Introducción: Las enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) se han propagado en el ambiente hospitalario y en la comunidad en forma marcada. Existen pocos estudios de investigación realizados en el país para la búsqueda de resistencia antibiótica en las bacterias de la flora intestinal.

Objetivos: Identificar la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales con solicitud de coprocultivo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño.

Diseño: Es un estudio observacional, descriptivo, prospectivo

Lugar: Instituto Nacional de Salud del Niño

Participantes: Se analizaron 235 muestras de heces con solicitud de coprocultivos procedentes de emergencia y consultorio externo del INSN.

Materiales y Métodos: En el estudio se trabajó con las colonias sospechosas de ser enterobacterias productoras de BLEE que desarrollaron en el agar Karmali que contiene 32 μ g/mL de cefoperazona, 20 μ g/mL de vancomicina y 10 μ g/mL de anfotericina B, se realizó su identificación bioquímica por métodos convencionales y la confirmación del fenotipo BLEE mediante el test de sinergia del doble disco (método de Jarlier) con cefotaxima, ceftazidima, cefepime y amoxicilina/ácido clavulánico. También se incluyeron los discos de imipenem, meropenem, cefoxitina, amikacina, gentamicina, ácido nalidixico, ciprofloxacina, cloranfenicol y sulfametoxazol/trimetoprim para evaluar su sensibilidad. Además se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar el gen de β -lactamasa de la familia CTX-M.

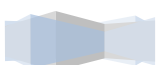
Resultados: Se aislaron 151 enterobacterias productoras de BLEE de las 235 muestras fecales analizadas, representando un 64,2% (151/235) del total: *Escherichia coli* 86,1% (130/151), *Klebsiella pneumoniae* 7,9% (12/151), *Salmonella sp.* 2,6% (4/151), *Enterobacter cloacae* 2,0% (3/151) y *Proteus mirabilis* 1,3% (2/151). Además el 89,1% de las enterobacterias productoras de BLEE presentaron el gen *bla*_{CTX-M}. Respecto a la sensibilidad a otros antibióticos, se observa una alta



resistencia al ácido nalidíxico (84,8%), ciprofloxacina (74,2%) y trimetoprim-sulfametoxazol (81,5%), una menor resistencia se observó para gentamicina y cloranfenicol con 57,6% y 45,0% respectivamente. La resistencia a la amikacina fue de 1,3% y todos los aislados fueron sensibles al imipenem y meropenem. Además se observó una corresponsencia a los antibióticos en el 88,7% de los aislamientos.

Conclusiones: Los resultados muestran la presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido en muestras fecales de pacientes ambulatorios. La *E.coli* productora de BLEE fue la especie aislada con más frecuencia (86,1%).

Palabras Claves: β -lactamasas de espectro extendido, heces, enterobacterias.



I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antibióticos constituye un problema serio de salud pública en el mundo, el cual se ha agudizado durante los últimos años, porque a pesar de disponer nuevos antibióticos, el ritmo del desarrollo de la resistencia bacteriana en los diferentes patógenos, representa un constante desafío terapéutico.¹

La resistencia a antibióticos pueden atribuirse a diferentes mecanismos, sin embargo el mecanismo más frecuente e importante, desde el punto de vista terapéutico, en bacilos gram negativos es la producción de enzimas tipo β -lactamasas. Las infecciones causadas por microorganismos productores de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son difíciles de manejar. En primer lugar, la terapia empírica a menudo fracasa, en segundo lugar estos organismos tienden a ser resistentes a otros antimicrobianos incluyendo las fluoroquinolonas y aminoglucósidos.^{2,3}

Hasta hace unos años se consideraba que los microorganismos productores de BLEE causantes de infecciones era un problema que se daba mayoritariamente en las instituciones hospitalarias; pero en la actualidad muchas investigaciones describen que estos microorganismos resistentes han salido del perímetro hospitalario, presentándose casos comunitarios. Cabe mencionar que las enterobacterias comensales de la flora intestinal pueden servir como un reservorio de genes de resistencia que posteriormente pueden ser adquiridas por las bacterias patógenas. El tracto digestivo humano ofrece el ambiente adecuado a ser colonizado por enterobacterias productoras de BLEE. Cuando las bacterias del contenido fecal, por diversas situaciones clínicas, invaden tejidos o cavidades estériles pueden diseminarse por todo el organismo provocando septicemia, shock, infección del tracto urinario e infecciones del tracto respiratorio.⁴



En nuestro país son pocos los estudios de investigación dirigidos a la búsqueda de resistencia antibiótica en bacterias propias del tracto intestinal.⁵

El presente estudio tiene como finalidad determinar la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales con solicitud de coprocultivo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño (INSN).



II.OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar la presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido en muestras fecales con solicitud de coprocultivo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar la presencia de enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido en muestras fecales de pacientes ambulatorios, utilizando el medio selectivo Karmali y su confirmación por el método sinergia del doble disco (método de Jarlier).
- ❖ Determinar el género y especie de las enterobacterias productoras de BLEE aisladas en las muestras fecales.
- ❖ Determinar la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE según género y grupo etario de los pacientes ambulatorios.
- ❖ Determinar el perfil de susceptibilidad de las enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas en las muestras fecales.
- ❖ Determinar la presencia del gen *bla_{CTX-M}* en las enterobacterias productoras de BLEE en las muestras fecales.



III. MARCO TEÓRICO

3.1. FLORA INTESTINAL Y ENTEROBACTERIAS

El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias comensales entre anaerobios obligados, anaerobios facultativos y aerobios. La población microbiana del intestino humano incluye unos 100 billones de bacterias que se componen de más de 500 especies distintas. El estómago y el intestino delgado proximal presentan concentraciones bacterianas de 10^2 a 10^5 UFC/mL de contenido intestinal debido a las secreciones biliares y pancreáticas ácidas que impiden su colonización. Sin embargo en el colon la densidad bacteriana aumenta a concentraciones bacterianas de 10^{11} – 10^{12} UFC/g de heces. Dicha población microbiana se encuentra en una relación de simbiosis con el humano, de modo que influyen permanentemente en su fisiología, teniendo un papel importante en la salud humana.⁶⁻⁹

La flora bacteriana se comienza adquirir inmediatamente después del nacimiento, la primera deposición del recién nacido (meconio) es estéril, pero desde las primeras horas de vida, el intestino es invadido por bacterias. La flora fecal del lactante está constituida principalmente por bacterias anaerobias gram positivas y en pequeña proporción *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*. A los dos años de edad, la flora establecida es prácticamente definitiva (**Tabla 1**). Hay modificaciones transitorias derivadas del uso de antibióticos o en relación a cambios dietéticos, pero suelen ser reversibles, de modo que cada individuo mantiene una flora predominante relativamente estable. La flora fecal de los niños y del adulto son muy heterogéneas siendo los anaerobios la fracción predominante, tanto gram positivos como gram negativos: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* y *Veillonella*.¹⁰⁻¹²



En el tubo digestivo del hombre y los animales, uno de los grupos importantes de bacterias es la familia *Enterobacteriaceae* denominada así por Rahn en 1937, constituye un grupo grande y heterogéneo de bacilos gram negativos, distribuidos en la naturaleza en forma amplia, son microorganismos ubicuos, se encuentran en forma universal en el suelo, en el agua, la vegetación y también formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales y el hombre.¹³

En la actualidad conforman un grupo de más de 157 especies incluidas en más de 40 géneros con características de la familia *Enterobacteriaceae*. Estos géneros se han clasificado según sus propiedades bioquímicas, estructura antigénica e hibridación y secuenciación de los ácidos nucleicos. A pesar de la complejidad de esta familia, menos de 20 especies son las responsables de más del 95% de las infecciones.¹⁴

En general su tamaño varía de 0,5 a 2 μm de ancho y de 2 a 4 μm de largo, no forman esporas, pueden ser móviles (con flagelos peritricos) o inmóviles, oxidasa negativa, catalasa positiva, reducen los nitratos a nitritos, fermentan la glucosa por la vía de Embden Meyerhoff. Degradan un amplio conjunto de otros carbohidratos y las diferencias metabólicas han servido clásicamente para establecer los criterios para la identificación de las especies (identificación bioquímica). Además de los flagelos, estructuras que utilizan para la locomoción, muchas especies producen fimbrias, cápsulas, que en ocasiones son importantes determinantes de virulencia. Las fimbrias o pili están presentes en casi todas las especies y son responsables de la fijación de las células bacterianas, a las células humanas o actúan como receptores de bacteriófagos.^{15, 16}

Como en otras bacterias gram negativas, la pared celular de las enterobacterias está compuesta por mureína o peptidoglucano, lipoproteínas, fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos (LPS) y tiene una disposición multilaminar. La capa de lipoproteína- mureína constituye alrededor del 20% de la pared de la



célula y es responsable de la rigidez celular. El 80% restante de la pared celular se une con los lípidos de la lipoproteína para formar la capa laminar. Los LPS contienen cadenas polisacáridas específicas que determinan la antigenicidad de las diversas especies y su componente lipídico es la estructura responsable de la actividad endotóxica. En el caso de ciertas especies de enterobacterias la estructura antigénica desempeña un papel importante en la clasificación epidemiológica. Los antígenos O (antígeno somático, LPS), H (antígeno flagelar proteico) y K (antígeno capsular polisacárido) son los principales componentes que se usan en la tipificación serológica.¹⁷

3.2. IMPORTANCIA CLÍNICA DE LAS ENTEROBACTERIAS

La familia incluye especies que son patógenas y otras comensales estables o transitorias que pueden producir infecciones oportunistas. Estas infecciones pueden darse siempre que existan factores predisponentes locales: lesiones sobre las barreras físicas constituidas por la piel y las mucosas como heridas, quemaduras, catéteres o las fisiológicas del árbol respiratorio (intubación), vía urinaria (sondas), vía genital (dispositivos intrauterinos); así como factores generales inespecíficas principalmente fagocitosis y la respuesta inmune del huésped que puede estar disminuida por una enfermedad de base.¹⁶

Las enterobacterias son el grupo de microorganismos que frecuentemente se aísla en los laboratorios clínicos de microbiología, produciendo infecciones tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunodeprimidos y pueden ser adquiridos en la comunidad como en ambientes hospitalarios. Producen una gran variedad de enfermedades en el ser humano, como el 30% de las septicemias, más del 70% de las infecciones del tracto urinario (ITU) y las infecciones intestinales. Algunas enterobacterias son parte de la flora intestinal normal, pueden producir infecciones oportunistas, entre los más frecuentes figuran: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*.



Mientras que otros géneros siempre se asocian a enfermedades, por presentar factores moleculares de patogenicidad, pudiendo causar infecciones en personas previamente sanas sin factores predisponentes, estas bacterias son: *Shigella*, *Samonella*, *Yersinia* y *Escherichia coli* (especies patógenas).¹⁸

La *E. coli* es el principal microorganismo anaerobio facultativo que reside en el intestino grueso y forma parte de la flora normal, asimismo es aislado con mayor frecuencia como agente causal de infecciones de las vías urinarias, heridas, neumonías, meningitis y septicemia tanto en las infecciones comunitarias como las adquiridas en el ambiente hospitalario. Las mujeres son más propensas a sufrir infecciones del tracto urinario a una edad más temprana debido a diferencias en la estructura anatómica, la maduración sexual, las alteraciones que se producen durante el embarazo y el parto.¹⁷

El género *Klebsiella* recibió ese nombre en honor a Edwin Klebs y la especie que se aísla con mayor frecuencia es la *Klebsiella pneumoniae*. Se encuentra en las heces de los individuos sanos (5 a 10%) y es con frecuencia un invasor secundario del aparato respiratorio de personas con enfermedad pulmonar crónica. Como otras enterobacterias oportunistas, *K. pneumoniae* puede ocasionar infecciones en aproximadamente el 3% de todas las neumonías bacterianas agudas y es el segundo patógeno más común del tracto urinario. También puede causar infecciones de heridas. Es la segunda especie después de *E. coli* causante de bacteriemia por gram negativos. Forman una cápsula y por esta razón producen colonias grandes y húmedas, frecuentemente muy mucosas.¹⁷

El género *Proteus* comprende cinco especies (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. myxofaciens*, *P. penneri* y *P. hauseri*), se encuentra habitualmente en el suelo, las aguas residuales y el estiércol, también con alguna frecuencia en las heces humanas normales, pero frecuentemente, en individuos bajo tratamiento antibiótico o durante enfermedades diarreicas ocasionadas por otros microorganismos. *Proteus mirabilis* es responsable de la mayor parte de las infecciones humanas causadas por este género.¹⁷



La tribu *Salmonelleae*, contiene como único género *Salmonella* que son patógenos ubicuos del hombre y del ganado, de los mamíferos silvestres, reptiles, pájaros e incluso de los insectos. El género *Salmonella* está constituido por un grupo de microorganismos de diversidad bioquímica y serológica amplia. Además de los seres humanos, estos microorganismos infectan a muchos animales y pueden invadir el tejido extraintestinal y producir la fiebre tifoidea. Las infecciones por *Salmonella* pueden presentarse por cualquiera de las tres entidades clínicas características; una gastroenteritis autolimitada, una septicemia con lesiones focales o una fiebre tifoidea. La gastroenteritis por *Salmonella* representa una infección de colon y en general se produce entre las 18 a 24 horas después de la ingestión de alimentos contaminados con estos microorganismos. La enfermedad se caracteriza por diarrea, fiebre y dolor abdominal, habitualmente es autolimitada, dura entre dos y cinco días.¹⁷

Tabla 1. Géneros bacterianos de la flora del colon

| Géneros bacterianos predominantes (10^{10} - 10^{12} UFC/g) | | | Géneros bacterianos menos frecuentes (10^8 - 10^9 UFC/g) | | |
|---|-------------|---|--|-------------|---|
| <i>Bacteroides</i> | Bacilo gram | – | <i>Escherichia</i> | Bacilo gram | – |
| <i>Eubacterium</i> | Bacilo gram | + | <i>Klebsiella</i> | Bacilo gram | – |
| <i>Bifidobacterium</i> | Bacilo gram | + | <i>Proteus</i> | Bacilo gram | – |
| <i>Peptostreptococcus</i> | Coco gram | + | <i>Enterococcus</i> | Bacilo gram | + |
| <i>Clostridium</i> | Bacilo gram | + | <i>Veillonella</i> | Coco gram | + |
| <i>Fusobacterium</i> | Bacilo gram | – | <i>Micrococcus</i> | Coco gram | + |
| <i>Lactobacillus</i> | Bacilo gram | + | | | |

Fuente: (Moreno J.M, 2006)



3.3. ANTIBIÓTICOS β -LACTÁMICOS

Los β -lactámicos son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo β -lactámico tetragonal, esencial para su actividad antibacteriana. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana, impidiendo la transpeptidación y el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano. Constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos y la más utilizada en la práctica clínica. Son compuestos de acción bactericida lenta, relativamente independiente de la concentración plasmática, que presentan escasa toxicidad y poseen un amplio margen terapéutico. Su espectro se ha ido ampliando a lo largo de los años por la incorporación de nuevas moléculas con mayor actividad frente a los gram negativos; pero la progresiva aparición de resistencias adquiridas ha limitado su uso empírico y su eficacia en algunas situaciones.¹⁹

3.3.1. CLASIFICACIÓN

El espectro de los β -lactámicos incluye bacterias gram positivas, gram negativas. No son activos sobre el *Mycoplasma* porque estos carecen de pared celular.^{19, 20}

Se pueden clasificar en los siguientes grupos:

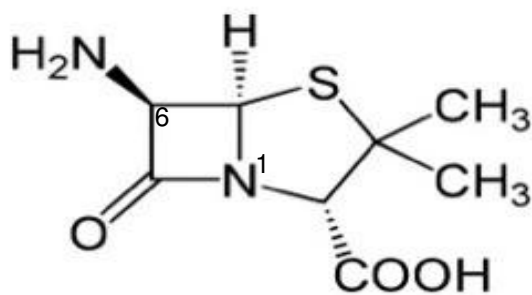
- ❖ Penicilinas: penicilina, amoxicilina, ticarcilina y piperacilina
- ❖ Cefalosporinas:
 - 1^{ra} generación: cefalotina, cefazolina, cefalexina, cefradina
 - 2^{da} generación: cefaclor, cefuroxima
 - 3^{ra} generación: cefpodoxima, cefoperazona, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima
 - 4^{ta} generación: cefepime
 - 5^{ta} generación: ceftobiprol, ceftarolina²¹
- ❖ Monobactámicos: aztreonam
- ❖ Carbapenémicos: imipenem y meropenem



3.3.1.1. PENICILINAS

El primer miembro de los betalactámicos, la penicilina se obtuvo en 1928 de una cepa del género *Penicillium notatum*. Están formadas por un núcleo químico común, denominado ácido 6-aminopenicilánico (6-APA o núcleo penam), constituido por 3 partes: Un anillo betalactámico, un anillo tiazolidínico y una cadena lateral unida en posición 6.

Las penicilinas constituyen el grupo de antibióticos más usados y mejor tolerados. Se caracterizan por tener una buena distribución en el organismo, baja toxicidad y actividad bactericida. La utilidad de esta penicilina natural, bencilpenicilina (penicilina G), está en función de su espectro antibacteriano relativamente reducido; cocos gram positivos, espiroquetas y algunos organismos gram negativos (*Neisseria*).^{19, 22}

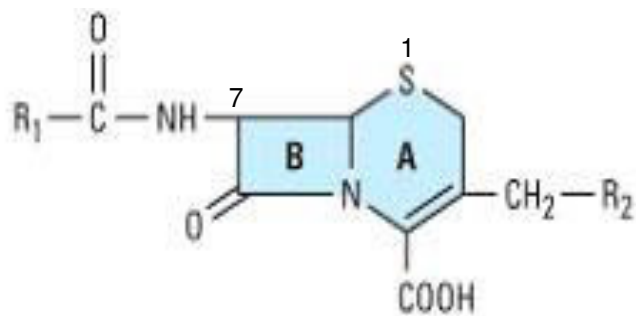


6-APA



3.3.1.2. CEFALOSPORINAS

En 1945 se aisló el primer antimicrobiano cefalosporínico de cultivos del hongo *Cephalosporium acremonium* al que se le denominó cefalosporina C. Las cefalosporinas son fármacos estructuralmente similares a las penicilinas, cuya estructura básica está constituida por un núcleo central llamado ácido 7-aminocefalosporínico (7-ACA o núcleo cefem) constituido por la fusión de dos anillos: un anillo betalactámico y un anillo dihidrotiazínico. La introducción de modificaciones en las cadenas laterales origina las diversas cefalosporinas. Son antibióticos de amplio espectro, muy eficaces y poco tóxicos, pero que deben ser cuidadosamente seleccionados para prevenir el desarrollo de resistencia bacteriana.^{19, 23}



7-ACA

Dentro de este grupo también se incluye las cefamicinas (cefotixin, cefotetan) que derivan de especies de *Streptomyces*, la cefamicina resulta de la adición de un grupo metoxi a C7, lo cual aumenta su actividad contra bacterias anaerobias. La más conocida es la cefoxitina que deriva de la cefamicina C.

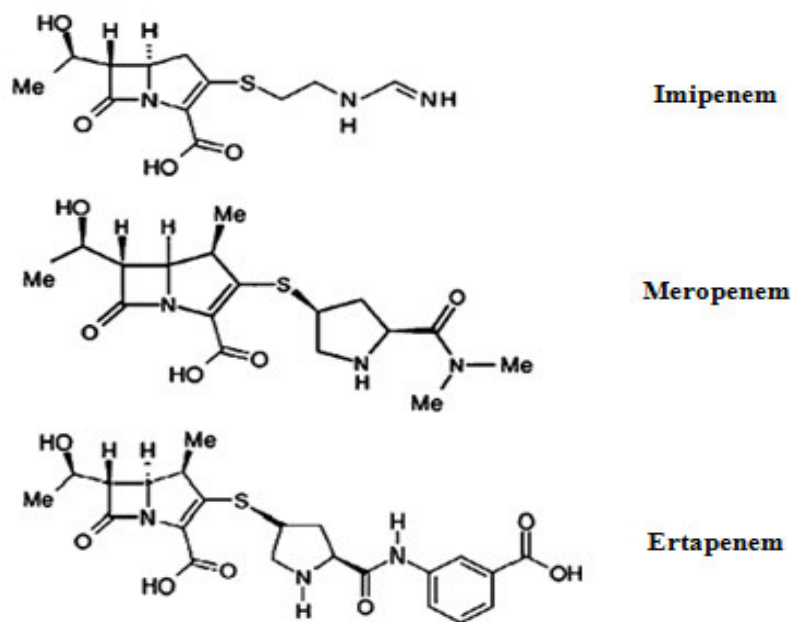


3.3.1.3. CARBAPENÉMICOS

Los carbapenémicos son los de mayor relevancia clínica. Difieren de las penicilinas por presentar una sustitución de un átomo de carbono por uno de azufre en posición C1, y por la adición de un doble enlace entre los átomos 2 y 3 del anillo pentagonal de la penicilina. Esto les confiere mayor afinidad por las proteínas ligadoras de penicilina (PLP), mayor potencia y un espectro antibacteriano más amplio.

Los carbapenémicos derivan del antibiótico natural tienamicina producido por el *Streptomyces catleya* descubierto en 1976, a partir del cual se ha desarrollado el imipenem, meropenem, ertapenem y doripenem.

El primer derivado que se utilizó, el imipenem, tiene un espectro bacteriano excepcionalmente amplio; se une con extraordinaria afinidad a la PBP2, por ello su acción antimicrobiana conduce a la producción de células bacterianas esféricas que se lisan con rapidez y facilidad.^{20,22-24}

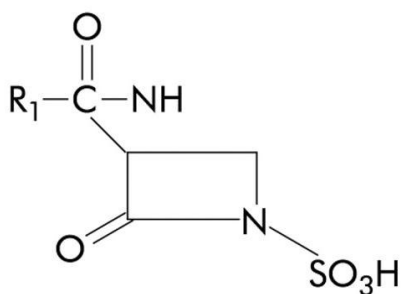


3.3.1.4. MONOBACTÁMICOS

Los monobactámicos fueron descubiertos el año 1981, éstos son antibióticos estructuralmente relacionados con los β -lactámicos, pero con una configuración monocíclica. El término deriva de Monocyclic Bacterially produced Betalactam, lo que indica que los primeros fueron de origen natural, obtenidos apartir de bacterias procedentes del suelo tanto gram positivas (*Nocardia*), como gram negativas (*Acetobacter*, *Chromobacterium* y *Gluconobacter*). Aunque estos compuestos tienen una débil actividad antibacteriana, la simplicidad de su estructura permitió sintetizar su núcleo estructural, adicionándole diversos radicales, lo que permitió obtener más de un millar de derivados semisintéticos y sintéticos con disímiles propiedades farmacológicas.

El primer monobactámico introducido en la clínica fue el aztreonam, obtenido por síntesis. El espectro de este antibiótico (bacterias gram negativas aerobias y anaerobias facultativas, incluyendo enterobacterias, *P. aeruginosa*, *Haemophilus* y *Neisseria*) es similar a los aminoglucósidos; pero, a diferencia de ellos, no es nefrotóxico ni ortotóxico es débilmente inmunogénico y no se ha asociado a coagulopatías, por lo cual representa una alternativa a los aminoglucósidos.

El aztreonam es muy estable a la hidrólisis de la β -lactamasa bacteriana y además presenta una cierta especificidad por las PBP-3, proteína que interviene en la división bacteriana.²²



3.3.1.5. INHIBIDORES DE LAS β -LACTAMASAS (IBL)

Los IBL deben atravesar los canales porínicos de la pared celular bacteriana y alcanzar concentraciones adecuadas en el espacio periplásmico de los bacilos gram negativos, donde se encuentra la β -lactamasa.

Según su mecanismo de acción se distinguen dos tipos de IBL:

- ❖ Inhibidores reversibles: Se unen a las β -lactamasas, pero no la destruyen y pueden disociarse de ella, perdiendo eficacia a medida que su concentración disminuye.
- ❖ Inhibidores irreversibles: Se unen a la β -lactamasa, alterándola y destruyendo su actividad en forma permanente, la enzima queda modificada químicamente de forma definitiva, mientras que el IBL sufre un proceso de autodegradación.

El inhibidor se une a la β -lactamasa impidiendo que el β -lactámico sea destruido, dejando al antibiótico activo y libre para que ejerza su efecto. Los IBL disponibles son ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam.²⁴

3.3.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS β -LACTÁMICOS

Los antibióticos β -lactámicos son agentes bactericidas que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana e inducen un efecto autolítico. La destrucción de la pared celular bacteriana se produce como consecuencia de la inhibición de la última etapa de la síntesis del peptidoglicano. El peptidoglicano está constituido por largas cadenas de glúcidos, formadas por la repetición de moléculas de ácido N-acetil murámico y N-acetilglucosamina. El ácido murámico fija cadenas de péptidos que se unen entre sí para formar una malla. Los β -lactámicos inhiben precisamente esta unión o transpeptidación, última etapa de la síntesis de la pared celular. De este modo, la pared queda debilitada y puede romperse por la presión osmótica intracelular. Para que actúe los betalactámicos es necesario que la bacteria se halle en fase de



multiplicación, donde se sintetiza la pared celular. Los β -lactámicos también actúan activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano^{25,26}

3.4. RESISTENCIA BACTERIANA

Las enterobacterias pueden generar resistencia bacteriana, capacidad que tienen los microorganismos para evadir la acción de los antimicrobianos. Esta resistencia ha aumentado en los últimos años, representando un problema de salud pública cada vez más importante.

La era antibiótica moderna se inició hace más de 80 años con el descubrimiento de la penicilina y otras sustancias similares, capaces de eliminar las bacterias. Tras los primeros y extraordinarios resultados la humanidad concibió la idea de eliminar las enfermedades infecciosas; pero la frecuente prescripción inadecuada, automedicación y expendio de antimicrobianos sin receta médica ha generado la selección de mutantes resistentes en el ambiente hospitalario y en la comunidad, ocasionando fracaso terapéutico en el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas, siendo uno de los principales problemas en todo el mundo, en particular en países de África, Asia y América Latina.^{27,28}

3.4.1. TIPOS DE RESISTENCIA

A. Resistencia Natural

También conocida como resistencia intrínseca, característica natural de determinados grupos de bacterias, siendo especie o género específica, demuestra el espectro natural del antibiótico. Esto puede ayudar a la identificación del microorganismo según el fenotipo presentado en la prueba de sensibilidad. Ejemplo: *Enterococcus* resistente a cefalosporinas y *Klebsiella* resistente a la ampicilina.^{26, 27}

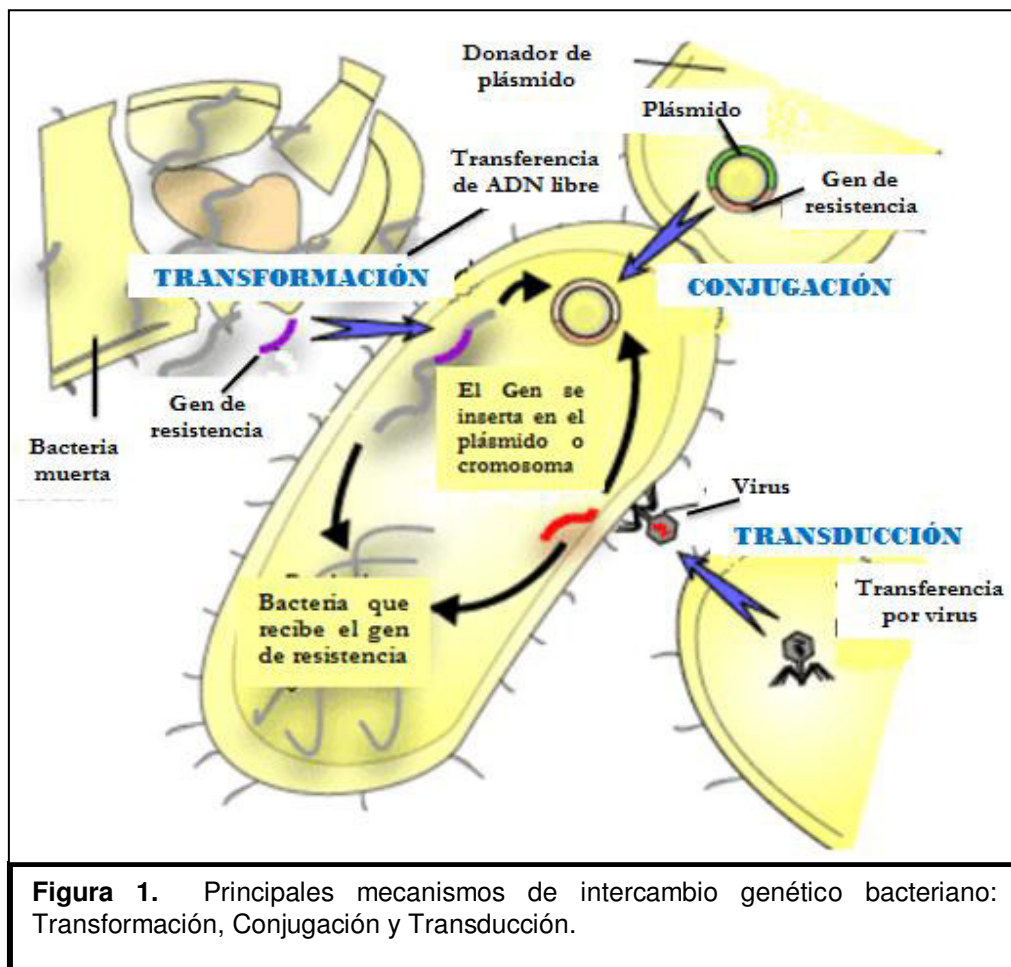


B. Resistencia Adquirida

Las bacterias adquieren resistencia por diferentes mecanismos genéticos:

- ❖ Por mutación durante el proceso de replicación donde puede ocurrir errores que modifican la secuencia de la codificación del ADN, consecuentemente, la alteración de la información contenida en el ADN original.
- ❖ Por transferencia de ADN mediante la conjugación, transducción y transformación.²⁷

(Figura 1)



Fuente: (Adaptado de Moreno C, et al.2009)



3.4.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA

Las bacterias pueden desarrollar mecanismos de resistencia que impiden al antibiótico ejercer su mecanismo de acción, ésto le permite gran capacidad de adaptación. Los mecanismos de resistencia de las bacterias son fundamentalmente tres:

- ❖ Modificaciones en el sitio blanco
- ❖ Trastornos de la permeabilidad
- ❖ Inactivación enzimática

3.4.2.1. Modificaciones en el sitio blanco

Los antibióticos se ligan a sitios específicos en la bacteria. Si este sitio fuera alterado, el antibiótico no puede ligarse y se torna ineficiente contra la bacteria. Esta alteración es físico-química, disminuye la afinidad de la droga por el lugar y hace que haya pérdida de la actividad antimicrobiana. Existen diversas estrategias para alcanzar este objetivo como las modificaciones en el gen que codifica el blanco del antibiótico, ejemplo alteraciones de las PBP (proteína ligadora de penicilina) de *Streptococcus pneumoniae* que confiere resistencia a penicilina e incluso a ceftriaxona; la adquisición de genes que codifiquen para sustitutos de los blancos originales, como PBP₂ en *Staphylococcus spp.* meticilinoresistentes o la dihidrofolato reductasa alternativa en las cepas resistentes a trimetoprim.



3.4.2.2. Trastornos de la permeabilidad

A. Alteraciones de las membranas bacterianas

La alteración en la expresión de los canales de porinas modifica la penetración y la consecuente acción de diferentes antibióticos. Se considera que los niveles de resistencia alcanzados no suelen ser suficientes como para conferir resistencia absoluta a un antibiótico. La ocurrencia simultánea de este mecanismo unido a otro, por ejemplo a la hidrólisis enzimática, sí puede conferir altos niveles de resistencia y ocasionar fallos terapéuticos.

B. Eflujo activo de antibióticos

Propiedad de expulsar activamente los antibióticos fuera de la célula, contribuyendo a una disminución de la concentración inadecuada de la droga y consecuentemente su acción no-efectiva (bomba de eflujo), éste es un mecanismo inespecífico, que afecta a diferentes grupos de antibióticos como β -lactámicos, quinolonas, tetraciclinas y cloranfenicol.

3.4.2.3. Inactivación enzimática

Mecanismo bastante frecuente relacionado con la producción de diferentes enzimas. Ciertas bacterias producen enzimas que neutralizan el antibiótico o sus efectos antimicrobianos. Principal mecanismo de inactivación es la hidrólisis, como sucede con las β -lactamasas y los β -lactámicos, pero también pueden ocurrir modificaciones no hidrolíticas tales como las acetilaciones, adenilaciones o fosforilaciones inactivantes de aminoglucósidos.²⁸



3.5. β -LACTAMASAS

Las β -lactamasas son enzimas que inactivan los antibióticos β -lactámicos al hidrolizar el anillo β -lactámico de los mismos. La mayoría de β -lactamasas inactivan ya sea penicilinas o cefalosporinas; pero algunas son capaces de inactivar ambos tipos de antibióticos. La mayoría de bacterias gram positivas secretan sus β -lactamasas, que inactivan los agentes antimicrobianos β -lactámicos extracelularmente, en el medio que las rodea. En contraste, las β -lactamasas de las bacterias gram negativas permanecen dentro de la célula e inactivan los β -lactámicos en el espacio periplásmico, esto es, en el espacio entre la membrana externa y la membrana citoplasmática.²⁵

El número de β -lactamasas actualmente descrito es sumamente elevado, incrementándose de manera continua, se han caracterizado más de 1000 β -lactamasas (<http://www.lahey.org/studies/webt.htm>, 16/07/2013), las familias de los genes más comunes dentro de las enterobacterias son: *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}.²⁹

3.5.1. CLASIFICACIÓN DE LAS β -LACTAMASAS

Actualmente se encuentran en uso dos esquemas de clasificación: la clasificación de Ambler basada en la estructura molecular, distingue cuatro clases de β -lactamasas en función de sus secuencias aminoacídicas. Las clases A, C y D son serina β -lactamasas y la clase B metalo- β -lactamasas dependientes de zinc. Por su parte, la clasificación de Bush-Jacoby, modelo funcional, separa las β -lactamasas en función de los sustratos que hidroliza y de sus perfiles de inhibición, distingue tres categorías y múltiples subgrupos: grupo 1 (clase C de Ambler) cefalosporinasas, grupo 2 (clases A y D de Ambler) representan el mayor grupo de β -lactamasas y el grupo 3 (clase B de Ambler) corresponden a las metalo- β -lactamasas.



La case A de Ambler y el grupo 2 de Bush comprenden a las BLEE, siendo descritas las enzimas tipo TEM, SHV y CTX. La clase B de Ambler y el grupo 3 de Bush incluye a las metalo- β -lactamasas, que requieren del metal zinc como cofactor, los genes codificantes están localizados en cromosomas o plásmidos. La clase C de Ambler y el grupo 1 de Bush, incluye un grupo de β -lactamasas tipo AmpC encontradas en algunos bacilos gram negativos. La case D de Ambler y grupo 2d de Bush, incluye BLEE tipo OXA, el comportamiento de estas enzimas es variable y son difíciles de detectar por los métodos de rutina en el laboratorio, estas enzimas resultan frecuentemente en gram negativos como *Acinetobacter spp.*³⁰ La clasificación de las β -lactamasas se resume en la **Tabla 2**.



Tabla 2. Clasificación de β -lactamasas de Bush, Jacoby

| Bush-Jacoby Grupo 2009 | Clase molecular Ambler | Sustrato | Inhibidor | | Enzima representativa |
|------------------------|------------------------|--|-----------|------|----------------------------------|
| | | | AC | EDTA | |
| 1 | C | Cefalosporinas | | | ACT-1,CMY-2,FOX-1,MIR-1 |
| 1e | C | Cefalosporinas | | | GC1, CMY-37 |
| 2^a | A | Penicilinas | Si | | PC1 |
| 2b | A | Penicilinas, cefalosporinas | Si | | TEM-1,TEM-2,SHV-1 |
| 2be* | A | Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos | Si | | TEM-3,SHV-2,CTX-M-15,PER-1,VEB-1 |
| 2br | A | Penicilinas | | | TEM-30,SHV-10 |
| 2ber | A | Cefalosporinas de espectro extendido, monobactámicos | | | TEM-50 |
| 2c | A | Carbenicilina | Si | | PSE-1,CARB-3 |
| 2ce | A | Carbenicilina | Si | | RTG-4 |
| 2d | D | Cloxacilina | | | OXA-1,OXA-10 |
| 2de | D | Cefalosporinas de espectro extendido, | | | OXA-11,OXA-15 |
| 2df | D | Carbapenémicos | | | OXA-23,OXA-48 |
| 2e | A | Cefalosporinas de espectro extendido | Si | | CepA |
| 2f | A | Carbapenémicos | | | KPC-2,IMI-1,SME-1 |
| 3^a | B | Carbapenémicos | | Si | IMP-1,VIM-1,SME-1 |
| 3b | B | Carbapenémicos | | Si | L1,CAU-1,GOB-1,FEZ-1 |

Fuente: (Bush, Jacoby *et al.*2010) ³⁰

AC: Acido Clavulánico (Inhibidor de β -lactamasas)

* β -lactamasas de espectro extendido



3.5.1.1. β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

La presencia de mutaciones en los genes que codifican las β -lactamasas clásicas (*bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-2}, *bla*_{SHV-1}), dieron lugar a las llamadas β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) que pertenecen al subgrupo 2be de la clasificación de Bush y Jacoby.³⁰

Las BLEE son enzimas codificadas por plásmidos, capaces de hidrolizar las penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera, cuarta generación y los monobactámicos, pero no las cefamicinas (cefotaxima) ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem). Pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de β -lactamasas como el tazobactam y el sulbactam.

Las cepas productoras de BLEE, en su mayoría son enterobacterias, con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, pero también se ha identificado en otras especies de bacilos gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa*.³¹⁻³²

A las BLEE tipo TEM y SHV se les ha unido las enzimas BLEE tipo CTX-M, detectado por primera vez a finales de 1980 en los aislados clínicos de la familia *Enterobacteriaceae* en Europa y Argentina. Desde mediados de la década de 1990 la aparición de enzimas CTX-M se ha observado en varias partes del mundo, incluyendo Europa, América del Norte, América del sur, Asia y África, estas enzimas actúan hidrolizando las oximino-cefalosporinas preferentemente cefotaxima.¹²

Actualmente se han identificado al menos 211 β -lactamasas tipo TEM, 177 enzimas tipo SHV y 147 enzimas tipo CTX-M (<http://www.lahey.org/studies/webt.htm>, 16/07/2013). Junto con las variantes de BLEE tipo TEM y SHV las β -lactamasas tipo CTX-M son reconocidos como uno de los más importantes BLEE adquiridos en la propagación de enterobacterias en todo el mundo. La mayoría de las cepas



productoras de enzimas tipo CTX-M han sido implicadas en las infecciones nosocomiales y en infecciones adquiridas en la comunidad.^{29,33}

La aparición de las BLEE ha dificultado enormemente el tratamiento antibiótico de numerosas infecciones bacterianas porque presentan resistencia a la gran mayoría de los β -lactámicos y altas tasas de resistencias a los antimicrobianos de otras familias. Estas bacterias resistentes pueden transmitir los genes de resistencia por transferencia horizontal, intercambio de plásmidos, generando así un problema terapéutico.^{2, 34-36}

3.5.1.2. β -LACTAMASAS TIPO AmpC

Las β -lactamasas de la clase molecular C de Ambler son serin- β -lactamasas pertenecientes al grupo 1 de la clasificación de Bush y Jacoby, llamadas también cefalosporinasas aunque su espectro de acción hidrolítica no solo incluye cefalosporinas. Las enterobacterias como *Enterobacter spp*, *Providencia spp*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*; al igual que bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa* poseen de manera natural β -lactamasas tipo AmpC de naturaleza cromosómica inducible. Las AmpC hidrolizan las cefamicinas (cefotaxima y cefotetan), cefalosporinas de primera generación (cefalotina), segunda generación (cefuroxima), en menor medida las cefalosporinas de tercera generación, poco eficaces sobre las cefalosporinas de cuarta generación (cefepime), pero no hidrolizan los carbapenémicos, tampoco son inhibidas por los clásicos inhibidores de β -lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam)^{30, 37}



3.6. ELEMENTOS GÉNÉTICOS INVOLUCRADOS EN LA DISEMINACIÓN DE RESISTENCIA

Es importante tener un mejor conocimiento de los elementos génicos móviles que facilitan la difusión de los genes *bla* y otros genes de resistencia asociados, porque el problema se complica cuando ocurre la transmisión de genes que codifican estas enzimas a otras enterobacterias.³⁸

La resistencia se transmite entre bacterias de la misma especie y entre especies y géneros diferentes, esta transferencia puede ser vertical (ocurre cuando un organismo recibe material genético de sus ancestros, es decir de células madre a células hijas) y horizontal (proceso en el que un organismo transfiere material genético a otra célula que no es descendiente mediante bacteriófagos, plásmidos o transposones).

3.6.1. PLÁSMIDOS

Los plásmidos son moléculas extra-cromosomales de ADN de doble cadena que presentan la capacidad de replicación. Pueden ser transferidos por conjugación mediante el pili que asocia la bacteria donadora y receptora. La transferencia puede darse entre bacterias de la misma especie o entre distintas especies y géneros. Esto los convierte en excelentes herramientas para la diseminación de resistencias. En general los plásmidos, codifican para más de un mecanismo de resistencia. Esto determina que en un evento de transferencia, la bacteria receptora adquiera todos los mecanismos de resistencia que se presenta en dicho plásmido.^{38,39}

3.6.2. TRANSPOSONES

Los transposones conocidos como genes saltarines son fragmentos de ADN capaces de movilizarse de un lugar a otro en el ADN, por transposición. A diferencia de los plásmidos los transposones no son autoreplicantes, deben mantenerse dentro de una estructura para replicarse. Existen diversos tipos de



transposones, pero las dos principales características que los diferencian de otros elementos génicos móviles son la presencia de secuencias repetidas e invertidas en sus extremos y la presencia de repeticiones directas que flanquean el transposon. Por ejemplo un transposón puede desprenderse de un plásmido e integrarse al cromosoma bacteriano y viceversa. Este mecanismo da la posibilidad, por ejemplo, que mecanismos de resistencia cromosómica que no son transferibles pasen a un plásmido y a través de este a otra bacteria.^{38,40}

3.6.3. INTEGRONES

Los integrones fueron descritos por primera vez por Stokes y Hall en 1989, son estructuras genéticas capaces de capturar y movilizar genes de resistencia a los antibióticos. No presentan autonomía de movimiento, se encuentran frecuentemente como parte de transposones que pueden localizarse en el cromosoma o plásmidos conjugativos, que sirven como vehículos para su transmisión. Estas estructuras son responsables de la diseminación horizontal de la resistencia bacteriana. Constan de tres regiones, dos invariables y una central variable, que porta el cassette. Existen clases de integrones según la secuencia de la integrasa (*int*), los más estudiados son las clases 1,2 y 3. Por la diversidad de integrasas se ha realizado una nueva clasificación: Integrones de resistencia a antibióticos e integrones presentes en el cromosoma bacteriano.^{38, 40-42}

3.6.4. CASSETTES

Los cassettes constituyen un grupo diverso de pequeños elementos móviles que incluyen un gen que puede codificar resistencia a los antimicrobianos.

Los cassettes génicos pueden existir tanto en su forma libre circular o integrada a un sitio. Solamente cuando están integrados los cassettes génicos son considerados formalmente parte de un integrón.



Codifican genes de resistencia a múltiples antibióticos como los β -lactámicos y los aminoglucósidos también genes relacionados a la resistencia a trimetoprima y cloranfenicol.^{40, 43}

3.7. DETECCIÓN FENOTÍPICA DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

3.7.1. Método de screening para detección de BLEE según CLSI* 2013

En esta prueba se busca la disminución de los halos de inhibición en los discos de screening: cefpodoxima (10 μ g), ceftazidima (30 μ g), aztreonam (30 μ g), cefotaxima (30 μ g) y ceftriaxona (30 μ g) que permitan sospechar la presencia de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis*. Se considera sospechoso de BLEE, cuando la cepa presenta halos de inhibición iguales o inferiores a los diámetros referidos en la **Tabla 3**, para al menos uno de los antibióticos.⁴⁴

Tabla 3. Diámetros críticos de screening para la detección de β -lactamasas de espectro extendido CLSI* 2013

| <i>E. coli</i> , <i>K. oxytoca</i> y <i>K. pneumoniae</i> | | |
|---|------------|--------------|
| Cefpodoxima | 10 μ g | ≤ 17 mm |
| Ceftazidima | 30 μ g | ≤ 22 mm |
| Aztreonam | 30 μ g | ≤ 27 mm |
| Cefotaxima | 30 μ g | ≤ 27 mm |
| Ceftriaxona | 30 μ g | ≤ 25 mm |
| <i>P. mirabilis</i> | | |
| Cefpodoxima | 10 μ g | ≤ 22 mm |
| Ceftazidima | 30 μ g | ≤ 22 mm |
| Cefotaxima | 30 μ g | ≤ 27 mm |

*Clinical and Laboratory Standards Institute



3.7.2. Prueba confirmatoria BLEE-CLSI (Método Americano)

Este método confirmatorio emplea discos de ceftazidima (30 µg) y cefotaxima (30 µg) con y sin ácido clavulánico (10 µg), este último es un inhibidor de las BLEE. Una diferencia mayor o igual a 5 mm de los diámetros de los halos de inhibición entre los discos de ceftazidima-ácido clavulánico (30/10 µg) y ceftazidima solo o cefotaxima-ácido clavulánico (30/10 µg) y cefotaxima es interpretada como resultado positivo.⁴⁴

3.7.3. Prueba confirmatoria BLEE – Método de Jarlier (Comité de la Sociedad Francesa de Microbiología)

Conocido como prueba de sinergia del doble disco porque está basado en la sinergia entre las cefalosporinas de espectro extendido o los monobactámicos y el disco de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg).

Los discos de ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg) y cefepime (30 µg) se disponen a 20 mm del disco de amoxicilina/ácido clavulánico (distancia de centro a centro de los discos). Si una imagen de sinergia aparece entre el disco amoxicilina/clavulánico y cualquiera de los cuatro antibióticos probados se toma como evidencia de la producción de BLEE, de lo contrario se le considera prueba negativa.^{45, 46}

3.7.4. Método de Hodge

Usado para la determinación de mecanismos enzimáticos de resistencia, se ha adaptado para identificar la presencia de β-lactamasas, dependiendo de los sustratos que se utilicen. Es útil para cualquier tipo de β-lactamasas.⁴⁷



3.8. IMPORTANCIA DE LAS β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN LA COMUNIDAD

El uso inapropiado de los antimicrobianos ha generado la selección de mutantes resistentes, ocasionando fracaso terapéutico, cabe mencionar que al administrar un antibiótico, además de actuar contra el patógeno, también afecta a los gérmenes comensales de la nasofaringe y el intestino, así como a otros hábitats bacterianos presentes en el humano.²

Por los años 1980 las enterobacterias, especialmente *Klebsiella spp.* productora de BLEE se había establecido como causa principal de las infecciones adquiridas en el hospital. Sin embargo a finales de 1990 y 2000, la *Escherichia coli* productora de BLEE fue identificado en la mayor parte de la comunidad como una causa de las infecciones urinarias.⁴⁸

La colonización intestinal por microorganismos productores de BLEE, es un factor de riesgo para presentar una infección y que al persistir en el intestino por un tiempo indeterminado podrían ser fuente de contaminación para las personas en ambientes intrahospitalarios y en la comunidad.⁴⁹

Varios autores han descrito un aumento del número de portadores fecales de BLEE en la comunidad, en un estudio realizado en Perú se aísla *Escherichia coli* comensales productora de BLEE de niños sanos menores de cuatro años, que evidenciaría el papel de reservorio de los genes de resistencia bacteriana distribuidos en la comunidad siendo un reflejo de la exposición comunitaria a los antibióticos.⁵⁰ En España se describe el aumento significativo de la colonización intestinal de enterobacterias productoras de BLEE en pacientes hospitalizados y ambulatorios, además la tasa de colonización entre voluntarios sanos fue de 3.7%.⁵¹



Existen portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE en la comunidad, por ello es importante conocer los reservorios y las formas de transmisión para establecer medidas de control eficaces, para ello se requiere una mayor conciencia de los clínicos y pruebas de laboratorios mejoradas, incluyendo estudios de vigilancia molecular, para reducir los fracasos del tratamiento, para limitar su introducción en los hospitales y prevenir la propagación de estos patógenos emergentes en la comunidad.⁵²

3.9. FACTORES QUE CONTRIBUYEN LA COLONIZACIÓN INTESTINAL POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE

En ambientes nosocomiales

En las adquisiciones de infecciones nosocomiales los factores que participan son la edad avanzada, la utilización de hemodiálisis, sonda vesical, catéteres intravenosos, el tratamiento antibiótico.⁴⁹

En la comunidad

Vanhoof, menciona que la adopción de niños de zonas de alta prevalencia de BLEE puede ser un factor que contribuye en la propagación de la resistencia a múltiples fármacos, los padres de los niños adoptados están en riesgo de contraer al microorganismo infeccioso multidrogoresistente, así como otros familiares que estén en contacto con el niño.⁵³

En un estudio realizado por Lohr *et.al.* (2013) se observó la transmisión de *K. pneumoniae* productora de BLEE tipo CTX-M-15 en 9/28 (32%) de los hogares de bebés colonizados durante la hospitalización en el periodo neonatal, donde el parto por cesárea y el tratamiento con antibióticos son posibles factores de riesgo para la propagación dentro de los hogares de estos niños.⁵⁴

En un estudio de cohorte realizado en clínicas de vacunación en humanos donde se solicitó muestras de heces, se evidenció la selección de enterobacterias productoras de BLEE, de las personas inscritas el 2,4% estaban colonizados antes de viajar, luego del post viaje 68 (30%) de los viajeros presentaron



enterobacterias productoras de BLEE donde se observó que el riesgo más importante fue el área geográfica visitada.⁵⁵

Ewers *et. al.* analizó muestras de orina, heridas y diarrea de los animales de compañía (perros, gatos) donde 10/177 (5,6%) *E. coli* fueron productoras de BLEE, 9 de estas cepas BLEE tipo CTX-M-15 y 1 cepa SHV-12. En este estudio se demostró que las cepas de *E.coli* productoras de BLEE tipo CTX-M-15 está presente en humanos y en animales de compañía de diversos países europeos, esto sugiere que cabe la posibilidad de la transmisión entre especies de cepas multirresistentes de humano a los animales y viceversa.⁵⁶ Johnson *et.al.* en un estudio realizado el 2009 indica que hay una relación entre la cepa de *E.coli* multidrogorresistente aislado de humano con la cepa aislado de perros y gatos del hogar.⁵⁷

También se puede transmitir estas bacterias a través de los alimentos y el agua. La *E.coli* también es habitante normal de la flora intestinal en los animales y los productos alimenticios pueden estar contaminados con el estiércol que se utiliza para promover el crecimiento en la lechuga y verduras.⁵⁸



IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio observacional sobre la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales de pacientes ambulatorios del Instituto Nacional de Salud del Niño (Lima, Perú) en los meses de julio del 2012 a enero del 2013 (semana epidemiológica # 29 del 2012 a la semana epidemiológica # 02 del 2013 respectivamente).

4.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo, de corte transversal.

4.3. POBLACIÓN

Fueron consideradas las muestras de heces con solicitud de coprocultivos provenientes de consultorio externo y emergencia que llegaron al laboratorio de microbiología “Dr. William Flores Sáenz” del Instituto Nacional de Salud del Niño durante el periodo de estudio.

4.4. MUESTRA

El tamaño de la muestra se obtuvo utilizando la fórmula para el cálculo de proporciones, considerándose 3% de prevalencia de la producción de β -lactamasas de espectro extendido en aislamientos de enterobacterias recuperados de portadores fecales en el INSN el año 2012, 95% el nivel de confianza, 2% de precisión y el tamaño de la población estimada 1752 coprocultivos en un año (Dato del servicio de microbiología, año 2011) realizando los cálculos se obtuvo $n=241$.



Se incluyeron 242 muestras de heces de acuerdo con los criterios de selección; pero finalmente se consideraron para el análisis 235 muestras fecales. Siete muestras fecales no fueron consideradas debido a que las colonias sospechosas de ser productoras de BLEE obtenidas en el aislamiento primario no pudieron ser recuperadas luego del almacenamiento.

4.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

La técnica que se utilizó en el presente estudio es la observación científica utilizando además como instrumento fichas debidamente elaboradas y ordenadas donde se registraron todos los datos que se recopilaron durante la investigación, los cuales fueron organizados en una base de datos para su análisis. **(Anexo 1)**

4.6. PLAN DE PROCEDIMIENTOS

Para la realización del presente estudio, se realizó las siguientes acciones:

Coordinación Institucional

Se presentó una solicitud al director del Instituto Nacional de Salud del Niño para su evaluación por el Comité de Ética e Investigación y a la jefa del Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Sáenz”, para contar con la autorización y apoyo en la respectiva aplicación del estudio.

Estudio Microbiológico

Recepción de la muestra

Sin tratamiento antimicrobiano o después de 3 a 4 días de haberlo suspendido, la muestra llega al laboratorio antes de las dos horas de obtenida.



Aislamiento primario de enteropatógenos

Las colonias de enterobacterias fueron obtenidas según procedimiento estándar de coprocultivos, ha solicitud, procedentes de emergencia y/o consultorio externo que llegaron al laboratorio de microbiología del INSN. El personal calificado realizó el aislamiento primario, sembrando la muestra en los siguientes medios de cultivo selectivos: agar Salmonella-Shigella (SS), agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS), agar MacConkey, agar sangre con filtro y/o Karmali (medio selectivo para el aislamiento del género *Campylobacter*), la diferenciación bioquímica para la identificación bacteriana y la susceptibilidad antibiótica como parte de la rutina de diagnóstico.

Búsqueda presuntiva de enterobacterias productoras de BLEE

En el estudio se trabajó con las colonias sospechosas de ser enterobacterias productoras de BLEE que desarrollaron en el agar Karmali (medio que contiene 32 µg/mL de cefoperazona, 20 µg/mL de vancomicina y 10 µg/mL de anfotericina B), dichas colonias se consideraban probables productoras de BLEE al ser resistentes a cefoperazona, una cefalosporina de tercera generación. **(Anexo 2)**

Se realizó la coloración gram y la prueba de oxidasa de las colonias, los bacilos gram negativos y oxidasa negativos fueron conservadas en caldo tripticasa de soya (TSB) con glicerol al 20% y almacenadas en criobox a – 20 °C hasta su procesamiento.

Identificación bacteriana

Para la reactivación de los aislados conservados en el medio TSB, se sembraron por dispersión y agotamiento en el medio MacConkey, incubándolos a 35 °C por 18 a 24 horas, luego se procedió a la identificación con las pruebas bioquímicas convencionales Triple Sugar Iron (TSI), Lisina Hierro Agar (LIA), Sulfuro Indol Movilidad (SIM) y Citrato de Simons.



Detección de fenotipo BLEE

La determinación de la producción de BLEE se realizó mediante el método de Jarlier (método de sinergia del doble disco), se utilizó una placa de Agar Mueller Hinton (MH) y se inoculó con una suspensión bacteriana de 0,5 McFarland, sobre ella se colocaron discos de susceptibilidad antimicrobiana (Oxoid): ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg) y cefepime (30 µg) a 20 mm de centro a centro de un disco central de amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg) (**Figura 2**), esta placa se incubó a 35°C por 18 - 24h, posteriormente se realizó la lectura. La presencia de BLEE se manifestó por el efecto sinérgico entre el inhibidor y los discos de antimicrobianos.⁴⁶ (**Anexo 3 y 4**)

Adicionalmente se realizó pruebas de susceptibilidad mediante el método de Kirby Bauer, siguiendo los lineamientos del CLSI 2013, para ello se utilizaron discos de ciprofloxacina (5 µg), ácido nalidixico (30 µg), gentamicina (10 µg), amikacina (30 µg), ceftoxitina (30 µg), sulfametoxazol/trimetoprim (23,75/1,25 µg), cloranfenicol (30 µg), imipenem (10 µg) y meropenem (10 µg).⁴⁴ (**Figura 3, Anexo 5**)

Control de calidad de discos

Antes de realizar la prueba de susceptibilidad de disco difusión se realizó el control de los discos utilizando una cepa de *E. coli* ATCC 25922, presentando halos de inhibición cuyos valores ingresaban en el rango establecido por el CLSI 2013 (**Anexo 6**). También se realizó un control del método para la detección de BLEE utilizando una cepa ATCC 700603 de *K. pneumoniae* productora de BLEE.



Figura 2. Representación esquemática de las distancias entre discos por el método de Jarlier (20 mm de centro a centro), sustratos y el inhibidor para la detección fenotípica de aislamientos productores de β -lactamasas. CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; FEP: cefepime; AMC: amoxicilina/ácido clavulánico.

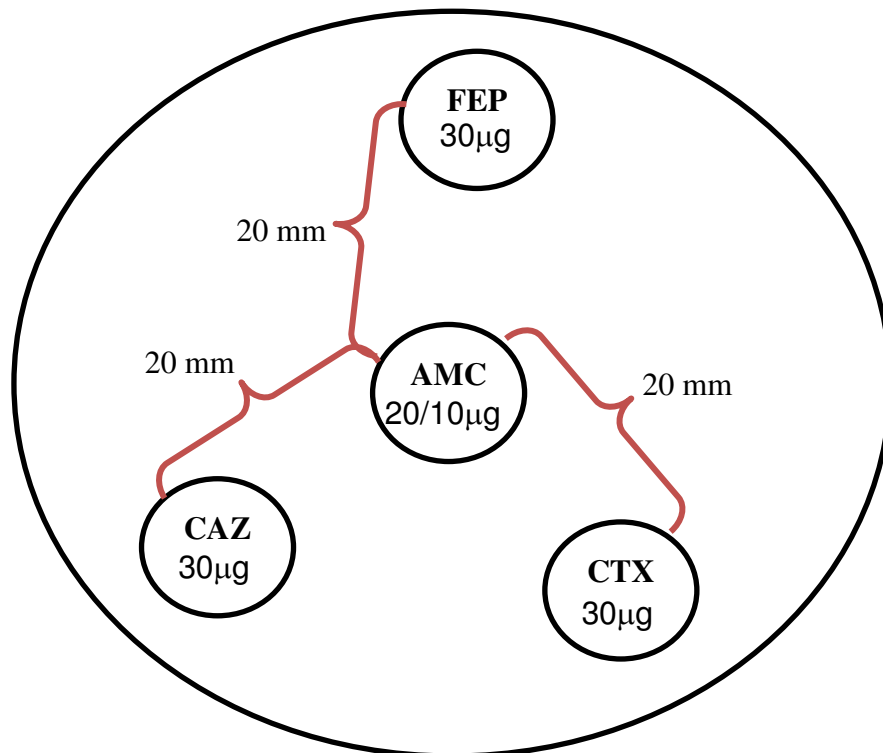
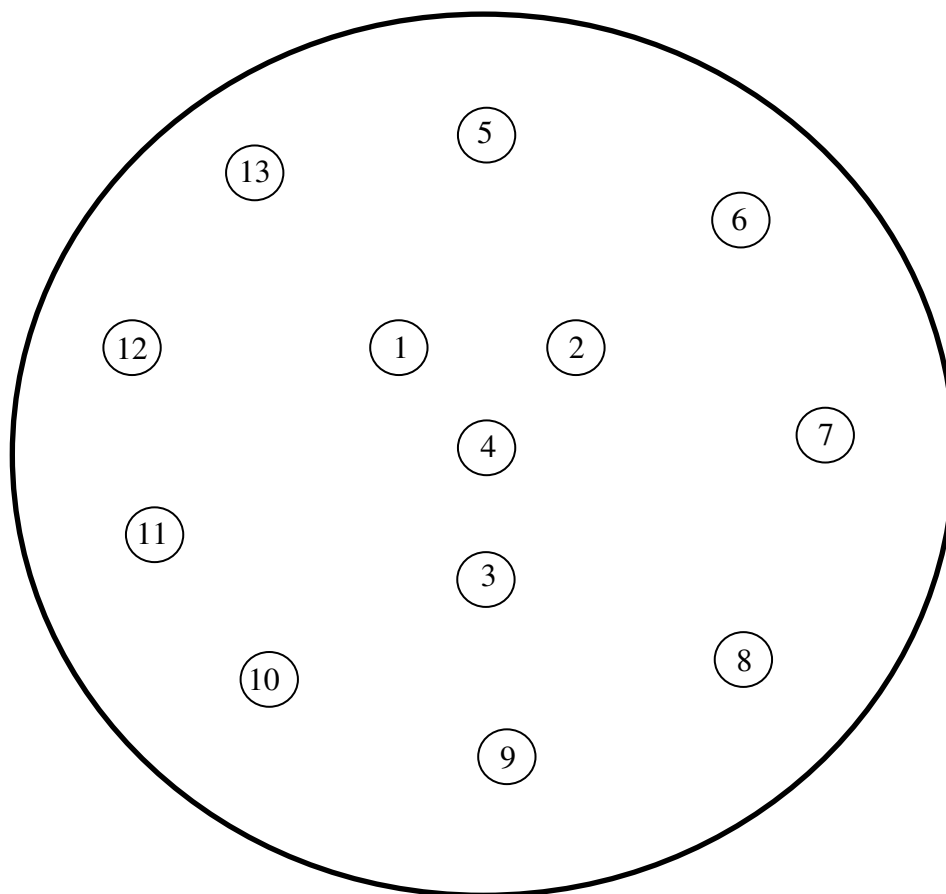


Figura 3. Representación esquemática de la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión.

1: cefepime (30µg); **2:** ceftazidima (30µg); **3:** cefotaxima (30µg); **4:** amoxicilina/ácido clavulánico (20/10µg);
5: gentamicina (10µg); **6:** sulfametoxazol/trimetoprim (23,75/1,25 µg); **7:** meropenem (10µg);
8: imipenem (10µg); **9:** cloranfenicol (30µg); **10:** amikacina (30µg); **11:** ácido nalidixico (30µg);
12: ciprofloxacina (5µg); **13:** cefoxitina (30µg).



Detección genotípica de las β -lactamasas de espectro extendido

Se realizó en el Laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética del Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión” de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Obtención de DNA total

A partir de cultivos de 24 horas de los microorganismos en estudio, se resuspendió de 3 a 4 colonias en 200 μ L de agua Milli-Q estéril. Se sometieron a ebullición durante 15 minutos y se centrifugó durante 2 minutos a una velocidad de 12 000 r.p.m. para descartar los restos celulares. Se conservó el sobrenadante a -20 °C.

Detección de la presencia de genes codificantes de BLEE tipo CTX-M

Primer utilizados en la amplificación por PCR del gen *bla*_{CTX-M}

| Target | Primer | Secuencia de Primer (5'→ 3') | Tamaño de producto |
|-----------------------------|---------|------------------------------|--------------------|
| <i>bla</i> _{CTX-M} | CTX-M-F | TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA | 593pb |
| | CTX-M-R | CGATATCGTTGGTGGTGCCAT | |



Amplificación por PCR

Mezcla de reacción:

| REACTIVO | CONCENTRACIÓN | VOLUMEN |
|---------------------------------|---------------|---------------|
| Buffer 10x (libre de $MgCl_2$) | | 2,50 μL |
| $MgCl_2$ | 50 mM | 1,00 μL |
| dNTPs | 10 mM | 0,75 μL |
| CTX-M-F | 10 μM | 0,50 μL |
| CTX-M-R | 10 μM | 0,50 μL |
| DNA * | | 2,50 μL |
| Agua milliQ estéril | | 16,80 μL |
| Taq | 5 U/ μL | 0,20 μL |

El ADN bacteriano se agrega en el área de extracción

Parámetros de amplificación

La amplificación se realiza en el termociclador en las siguientes condiciones:

| Protocolo PCR | Tº C | Tiempo |
|----------------------|-------|-------------|
| Denaturación inicial | 94º C | 7 minutos |
| Denaturación | 94º C | 50 segundos |
| Hibridación | 52º C | 50 segundos |
| Extensión | 72º C | 1 segundos |
| Extensión final | 72º C | 5 minuto |

35 ciclos



Electroforesis

Los productos de amplificación fueron resueltos por electroforesis en agarosa al 1,5% en buffer TAE 1X, por calor. Para cargar en cada pocillo se mezcló 9 µL de cada producto con 1 µL de buffer de muestra y se sembró todo el volumen en el gel. El Ladder se agrega en una canaleta para compararlo a la migración de los productos obtenidos.

Las condiciones de corrida: tiempo: 45 minutos, voltaje: 100V, buffer de corrida: TAE 1X

Coloración

Terminada la corrida los geles son teñidos con bromuro de etidio (0,5 µg/mL) por 10 minutos, luego se decolora en agua PCR y posteriormente son colocadas al transiluminador para su lectura e interpretación.

Tamaño del fragmento

CTX-M: 593 pb

4.7. ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó un estudio descriptivo univariado de cada una de las muestras en estudio, clasificándolas en productoras o no productoras de β-lactamasas. Para la determinación de los porcentajes de resistencia y sensibilidad antimicrobiana de las distintas especies de enterobacterias en estudio, los datos obtenidos fueron introducidos en Microsoft Excel 2010 y en el programa WHONET (World Health Organization Net Versión 5.6), programa estadístico utilizado por la Organización Panamericana de la Salud para la vigilancia de la resistencia bacteriana, que permitió analizar datos epidemiológicos del portador y las características del germen en estudio.



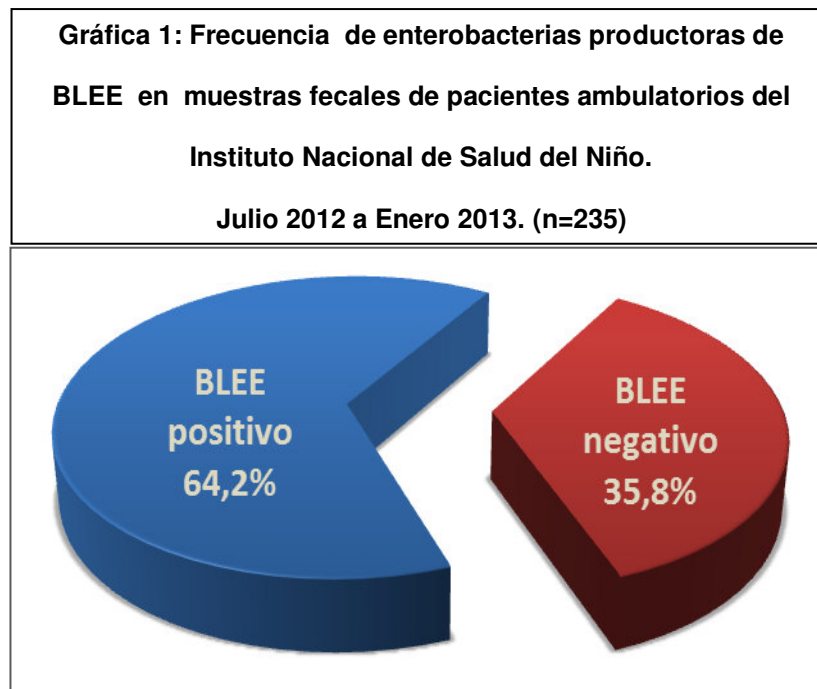
V. RESULTADOS

Descripción general de la muestra estudiada

Se analizó un total de 235 muestras de heces con solicitud de coprocultivos. El 58,7% (151/235) de las muestras provenían de pacientes ambulatorios que acudieron a consultorio externo y el 41,3% (97/235) acudieron al servicio de emergencia. De ellos el 55,3% (130/235) eran de sexo masculino y el 44,7% (105/235) de sexo femenino. La edad promedio de la población estudiada fue de tres años comprendidos entre 9 días y 18 años.

Enterobacterias productoras de BLEE aisladas en muestras fecales

Se aislaron 151 enterobacterias productoras de BLEE de 235 muestras fecales analizadas, representando un 64,2% (151/235) del total (**Gráfica 1**). Cabe mencionar que la muestra #20 (código A-2567) solo presentó β -lactamasa tipo AmpC. (**Anexo 7**)



Se observa en la **tabla 4** la distribución de enterobacterias productoras de BLEE aisladas según género y especie. De mayor a menor frecuencia conformado por aislados de: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus mirabilis*.

La **tabla 4** muestra la distribución de los aislados y el porcentaje de producción de BLEE

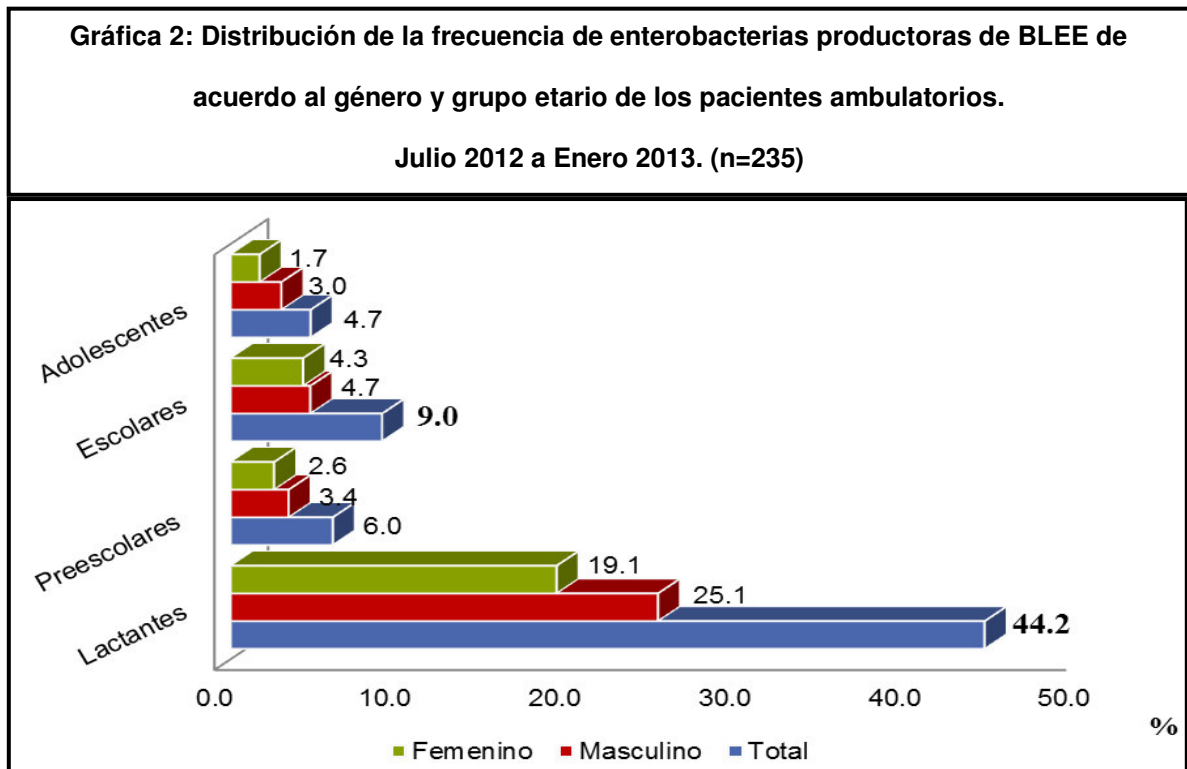
Tabla 4. Distribución de enterobacterias productoras de BLEE según género y especie aisladas en muestras fecales de pacientes ambulatorios del Instituto Nacional de Salud del Niño. Julio 2012 a Enero 2013.

n=151

| Especie bacteriana | N° de aislados | % |
|------------------------------|----------------|-------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 130 | 86,1% |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 12 | 7,9% |
| <i>Salmonella sp.</i> | 4 | 2,6% |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 3 | 2,0% |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 2 | 1,3% |
| TOTAL | 151 | 100% |



Las enterobacterias productoras de BLEE aisladas de muestras fecales, categorizadas de acuerdo al género y grupo etario de los pacientes ambulatorios, se observó lo siguiente: 44,2% (104/235) lactantes, 6,0% (14/235) preescolares, 9,0% (21/235) escolares y 4,7% (11/235) adolescente, en todas las edades el la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE en el sexo masculino se presenta ligeramente superior al sexo femenino. La presencia de enterobacterias productoras de BLEE se presentó incluso en el grupo de menor edad de 1 a 3 meses (**Gráfica 2**). Además cabe mencionar que solo se procesaron dos muestras de heces pertenecientes a neonatos donde no se aisló enterobacterias productoras de BLEE.



- LACTANTES : 1mes -2años
- PREESCOLARES : 3 - 5años
- ESCOLARES : 6 -12 años
- ADOLESCENTES : 13 - 18años



Se utilizó la prueba de Chi cuadrado para determinar la relación entre las enterobacterias productoras de BLEE con el género y el grupo etario de los pacientes ambulatorios, y se obtuvo un valor de 0,304 y 3,992 con un valor p no significativo de 0,678 y 0,262 ($>0,05$) respectivamente, por lo tanto podemos afirmar que no existe relación entre el género, grupo etario y la presencia de enterobacterias productoras de BLEE.

Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad al ácido nalidixico, ciprofloxacina, gentamicina, cloranfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol fue variable. **(Gráfico 3)**

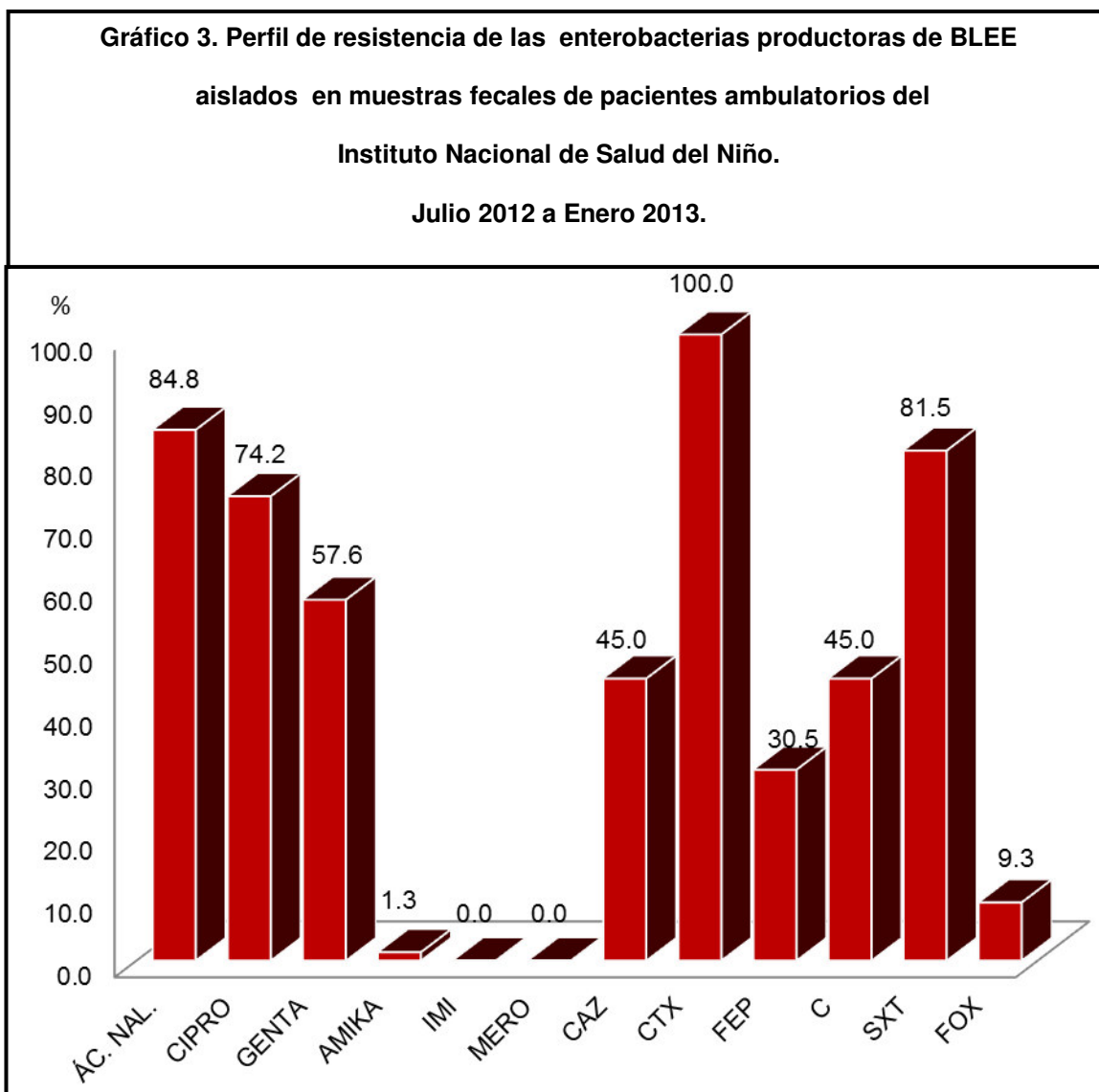
En el grupo de las quinolonas y fluoroquinolonas se evaluaron el ácido nalidíxico (30 μ g) y la ciprofloxacina (5 μ g) con una resistencia de 84,8% y 74,2% respectivamente, la sensibilidad fue muy baja para ambos antibióticos.

La evaluación del grupo de los aminoglucósidos se realizó con la gentamicina (10 μ g) y amikacina (30 μ g). Donde se mostró una alta tasa de resistencia con el 57,6% para la gentamicina y por el contrario se mostró una baja tasa de resistencia con el 1,3% a la amikacina.

La resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol (23,75/1,25 μ g) fue alta en todas las cepas tanto para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp.* y *Enterobacter cloacae* con el 81,5%. La resistencia al cloranfenicol (30 μ g) fue 45,0% y la sensibilidad 47,0%. Todos los aislados eran sensibles a los carbapenémicos.

Además se observa una corresponsión a 5 clases de antibióticos (quinolonas, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, trimetoprim-sulfametoxazol y cloranfenicol) en el 88,7% de los aislamientos.





El perfil fenotípico de susceptibilidad a los antibióticos de los 151 aislados de enterobacterias productoras de BLEE, se muestran en el **Anexo 8**.



Análisis genotípico mediante el PCR

Según el análisis molecular 123 aislamientos de las enterobacterias productoras de BLEE presentaron el gen *bla*_{CTX-M}, representando el 89,1% (123/138) del total. Las enterobacterias productoras de BLEE aisladas fueron: *Escherichia coli* 86,2% (119/138), *Klebsiella pneumoniae* 7,9% (11/138), *Salmonella sp.* 2,9% (4/138), *Enterobacter cloacae* 1,4% (2/138) y *Proteus mirabilis* 1,4% (2/138).



V. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados encontrados en la presente investigación se evidencia la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales, siendo un motivo de preocupación, la presencia de cepas resistentes de enterobacterias comensales en la flora intestinal normal indicaría que los niños pueden servir como un reservorio de genes de resistencia que se encuentran localizados en plásmidos altamente transmisibles, la propagación de estos genes entre bacterias de igual o diferentes especies es preocupante por que hay pocas alternativas terapéuticas; además se asocia con casi el doble de la mortalidad en comparación con las no productoras de BLEE. El transporte intestinal es un factor clave en la epidemiología de las enterobacterias productoras de BLEE, el estudio de la prevalencia de estas bacterias resistentes y factores de riesgo en niños es de particular interés.^{59,60}

El resultado del presente estudio indicó una frecuencia de 64,2% de enterobacterias productoras de BLEE, comparable a un estudio similar realizado en El Cairo, Egipto el año 2011, donde se muestra un 63,3% de bacterias productoras de BLEE, a partir de muestras de heces de 632 personas que asistieron a una clínica, donde para la selección de cepas productoras de BLEE utilizaron agar MacConkey suplementado con cefotaxima y fueron confirmados utilizando el método de disco combinado recomendado por el CLSI, mientras que en nuestro estudio para la detección presuntiva de los aislados resistentes se utilizó el agar Karmali que contiene cefoperazona y se confirmó con el método sinergia del doble disco.⁶¹

Los resultados encontrados difieren a los trabajos realizados por otros autores: Husickova *et al.* realizaron un estudio en la República Checa (2010), reportaron el 3,2% de portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE en sujetos de la comunidad.⁶² Adriatahina *et al.* (2010) en una investigación en una unidad pediátrica de Madagascar, realizaron hisopados rectales el primer y el último día de



hospitalización, donde se encontró un 21,2% de enterobacterias productoras de BLEE en las muestras tomadas el primer día de hospitalización y al momento del alta se encontró el 57,1% de enterobacterias productoras de BLEE.⁶³ Estudios de Woerther *et.al.* en Nigeria sobre el aumento masivo, difusión e intercambio de genes de codificación de BLEE entre enterobacterias intestinales en niños hospitalizados con desnutrición aguda grave, mencionan que se obtuvo una frecuencia de portadores de BLEE del 31,0% al ingreso de los 55 niños, todos recibieron antibióticos durante su hospitalización, se vuelve a muestrear al momento del alta y la tasa de adquisición fue del 94,0%, donde el gen *bla*_{CTX-M-15} fue encontrado en más del 90.0% de los portadores.⁶⁴

Se observa con el avance del tiempo un incremento de la resistencia según lo reportado por: Pallechi *et al.* en Perú-Bolivia donde detectaron enterobacterias productoras de BLEE en 0,1% (4/3208) de las muestras fecales de niños sanos de cuatro centros urbanos de América Latina, la caracterización molecular reveló la presencia del gen β -lactamasa tipo *bla*_{CTX-M} en los cuatro aislados. El año 2005 en la misma población de niños sanos de Perú-Bolivia reveló el incremento de portadores fecales de *Escherichia coli*, en comparación al 2002 (0,1% el año 2002 y 1,7% en el 2005).^{50, 65} Así como, Valverde *et al.* (2004) realizaron un estudio en España donde informaron que las tasas de portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE se incrementaron de un 0,3% en 1991 a 5,5% en el 2003 en pacientes ambulatorios y un 3,7% en voluntarios sanos el año 2003.⁵¹ Además se sabe por Muzaheed, *et al.* (2009), en un estudio realizado en portadores fecales de la India se observó que todos los aislados resultaron ser resistentes al menos a una de las cefalosporinas de tercera generación, revelándose que *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* son productores de β -lactamasas tipo CTX-M-15.²

Los factores de riesgo han sido estudiados por, Abdurrahman y *et al.* (2007) donde incluye tratamiento previo con cefalosporinas, penicilinas y fluoroquinolonas.⁶⁶ En nuestro estudio la tasa de resistencia a las



fluoroquinolonas es alta (74,2%). Aunque no se pudo obtener la documentación que confirma la reciente exposición a los antibióticos entre los pacientes, es probable que la venta libre de antibióticos en países en desarrollo cree un fondo general de organismos resistentes en la población. Las formulaciones orales de amoxicilina clavulánico y fluoroquinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina) son algunos de los antibióticos que con frecuencia son obtenidos y utilizados sin receta médica. Abdurrahman y *et al.* (2011) en Turquía donde evaluaron la prevalencia y los factores de riesgo en portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE en niños hospitalizados y ambulatorios mostraron que el 7,2% de los niños ambulatorios eran portadores fecales de bacterias productoras de BLEE, dentro de los factores de riesgo que se mencionan tenemos el uso indiscriminado de cefalosporinas de segunda, tercera generación y la ingesta de alimentos contaminados con bacterias resistentes.⁶⁷

La frecuencia de portadores fecales varía entre las diferentes áreas geográficas, en el 2012, fue 4,6% en Francia⁶⁸, un 32,6% en Guinea-Bissau⁷³, el 12,0% en Japón⁶⁹ y el 11,3% en Reino Unido⁷⁰. Dichos resultados difieren con el presente estudio. Las tasas de resistencia de las diferentes regiones geográficas y en diferentes años pueden variar de acuerdo a diferentes políticas antibióticas.

El resultado de nuestro estudio fue similar a un estudio en Egipto; pero superior a la mayoría de otros informes anteriores ya mencionados. La alta resistencia mostrada puede ser por que los antibióticos β -lactámicos son ampliamente utilizados en la terapia antibacteriana a pacientes internados y de consulta externa lo que selecciona bacterias resistentes, además de la automedicación de los individuos de la comunidad.

Para facilitar la búsqueda presuntiva de enterobacterias productoras de BLEE en otros estudios utilizaron agar MacConkey suplementado con ceftazidima y cefotaxima⁵¹ ambas cefalosporinas de tercera generación, agar Chrom ID con cefotaxima, agar Drigalski con ceftriaxona, agar EMB suplementado con



cefotaxima⁶³ y en el presente estudio se utilizó el medio selectivo Karmali, que contiene 32 µg/mL de cefoperazona, donde el desarrollo de colonias diferentes al género *Campylobacter* se consideraban probables productoras de BLEE al ser resistentes a cefoperazona (cefalosporina de tercera generación) lo cual fue confirmada fenotípicamente, este último medio a diferencia de los otros se puede utilizar en la rutina de coprocultivos por que permite el aislamiento del género *Campylobacter*.

El rango de temperatura de las enterobacterias fluctúa entre 20 °C a 45 °C (mesófilas), siendo 37 °C la temperatura óptima, para la captación de las enterobacterias en el presente estudio se utilizó la temperatura de 42 °C el cual no alteró el desarrollo de *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella* y *Shigella* evaluados antes de la búsqueda de enterobacterias en las muestras fecales.⁷¹ **(Anexo 9)**

La multi-drogo-resistencia (MDR) es muy común en las bacterias productoras de BLEE, en el presente trabajo se encontró 134 de los 151 (88,7%) aislados productores de BLEE se clasificaron como MDR de acuerdo con la definición propuesta por Magiorakos *et al.*⁷² En las enterobacterias productoras de BLEE aisladas, se observa alta resistencia acompañante a las quinolonas, fluoroquinolonas, sulfametoxazol/trimetoprim y una resistencia menor a gentamicina, cloranfenicol siendo sensibles la amikacina y los carbapenémicos. Esto es alarmante, porque no se dispone de muchas alternativas terapéuticas, en caso de infección por alguno de estos microorganismos se puede administrar como tratamiento amikacina y en infecciones complicadas los carbapenémicos.

Cabe destacar que en seis enterobacterias productoras de BLEE al interpretar el antibiograma **(Figura 3)** se observó la disminución del halo del disco de cefoxitina (<=18mm) lo que sugirió la presencia de β-lactamasa tipo AmpC, comprobándose mediante el método de Hodge y utilizando el disco de ácido fenil borónico (AFB), inhibidor de las β-lactamasas tipo AmpC. **(Anexo 7)**



En el presente estudio la frecuencia de enterobacterias productoras de BLEE fue alta en el grupo de los lactantes, este dato indicaría que la colonización con bacterias productoras de BLEE ocurre a temprana edad, puede ser por el uso cada vez mayor de los antibióticos en la comunidad o en previas hospitalizaciones, dando lugar a una presión selectiva a favor de las bacterias que han adquirido resistencia. En un estudio realizado en Guinea-Bissau muestra que los niños que compartían la cama tenían un mayor riesgo de ser colonizados con cepas productores de BLEE, lo que indica que el contacto directo y el hacinamiento pueden ser importantes en la propagación de las BLEE.⁷³

Es importante mencionar que en los últimos años se ha descrito el incremento de enterobacterias productoras de BLEE de la familia CTX-M⁶⁵, en este estudio se encontró que la gran mayoría de los aislados productores de BLEE presentaban en gen *bla*_{CTX-M}, el grupo de gen dominante en los estudios de portadores fecales de República Checa⁶², España⁵¹, India², Madagascar⁶³, Nigeria⁶⁴, Francia⁶⁸, Guinea-Bissau⁷³ y Japón⁶⁹ poniendo de relieve la importancia de este gen en la difusión global de BLEE. La BLEE tipo CTX-M tiene principalmente actividad sobre la cefotaxima y no sobre la ceftazidima; aunque en los últimos años la emergencia de variantes de CTX-M (CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-27 y CTX-M-19) están mejorando su actividad frente a ceftazidima.

Según las recomendaciones del CLSI desde el año 2010 no se debería buscar enterobacterias productoras de BLEE, solo se debe informar los puntos de corte obtenidos, pero con los resultados obtenidos en el presente trabajo se demuestra que esto representaría una falla en el tratamiento, debido a que las bacterias productoras de BLEE pueden presentar halos de inhibición sensibles para ceftazidima según el punto de corte del CLSI 2013, pero ser productoras de BLEE. Por lo tanto se debe continuar con la búsqueda, reporte e informe de BLEE en las pruebas de rutina, si es BLEE positivo informar resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos independientemente de las zonas de inhibición obtenidas, si es BLEE negativo informar según el punto de corte CLSI 2013.



Las infecciones causadas por bacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido representan un reto para el equipo de salud por la limitada disponibilidad de opciones de tratamiento, esto obliga a la prevención de estas infecciones mediante la restricción del uso de agentes antimicrobianos, junto con la aplicación de medidas inmediatas de control de infecciones. Para controlar o reducir la elevada tasa de portadores de estos organismos, se deben tomar medidas efectivas como prohibir la venta de antibióticos sin receta médica y concientizar en la población los peligros de tomar antibióticos sin consulta médica.



VI. CONCLUSIONES

- ❖ En el presente estudio se demostró la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en 64,2% (151/235) de las muestras fecales no repetidas con solicitud de coprocultivo analizadas en el Laboratorio de Microbiología “Dr. William Flores Saenz” del Instituto Nacional de Salud del Niño.
- ❖ La enterobacteria más frecuentemente aislada fue *E. coli* representando el 86,1% (130/151) de todos los aislados bacterianos, seguida de *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp.*, *Enterobacter cloacae* y *Proteus mirabilis*.
- ❖ La mayoría de las muestras fecales correspondían a los lactantes, de ellos un 44,3% (104/235) presentaban enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido.
- ❖ Se observó que en todos los grupos etarios, el género masculino presentaba mayor porcentaje de enterobacterias productoras de BLEE.
- ❖ En la mayoría de las enterobacterias productoras de enzimas BLEE aisladas, se observó la resistencia a las fluoroquinolonas, gentamicina y sulfametoxazol/trimetoprim. Todos los aislados resultaron ser resistentes a la cefotaxima.
- ❖ De las enterobacterias productoras de BLEE aisladas de las muestras fecales el 89,1% presentaban el gen *bla*_{CTX-M}.
- ❖ Los resultados sugieren que la flora fecal de los pacientes ambulatorios, representan un reservorio de genes de BLEE tipo CTX-M



VII. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar un estudio semejante en una población de una comunidad sin historia de tratamiento antibiótico ni antecedentes de ingreso hospitalario.
- ❖ Evaluar los factores de riesgo que contribuyen la colonización intestinal por enterobacterias productoras de BLEE.
- ❖ Educar a la comunidad y actualizar al personal de salud sobre el uso racional de los antimicrobianos.
- ❖ Implementar un sistema de vigilancia de la resistencia a antibióticos en pacientes ambulatorios, que permita detectar la aparición de enterobacterias productoras de BLEE.
- ❖ Continuar con la búsqueda de mecanismos de resistencia en el laboratorio de microbiología.
- ❖ Realizar el análisis molecular para detectar los genes *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, que codifican la producción de BLEE en las enterobacterias estudiadas.



VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. **Movilizar la voluntad política para contener la resistencia a los antimicrobianos.** Bulletin of the World Health Organization.2011; 89:168–169.
2. Muzaheed Y, Adams J, Shivannavar C, Paterson D, Gaddad S. **Faecal carriage of CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with acute gastroenteritis.** Indian J Med Res. 2009; 129:599-602.
3. Perozo M, Armindo J, Castellano G, Maribel J. **Detección de β -lactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia *Enterobacteriaceae*.** Kasmera. 2009; 37(1):25-37.
4. García A, García E, Hernández A, Ruiz J, Yague G, Herrero J, Gómez J. **Bacteriemias por *Escherichia coli* productor de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE): significación clínica y perspectivas actuales.** Rev.Esp.Quimioter.2011; 24(2):57-66.
5. Mosquito S, Ruiz J, Bauer J, Ochoa T. **Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea.** Rev Perú Med Exp Salud Publica.2011; 28(4): 648-56.
6. Guarner, F. **Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad.** Nutr Hosp. 2007; 22(Supl. 2):14-9.
7. Ann M, O'Hara, Fergus S. **The gut flora as a forgotten organ.** EMBO reports.2006; 7:688-693.
8. Evanldson G, Heimdahl A, Kager L, Nord CE. **The normal human anaerobic microflora.** Scand J Infect Dis Supl. 1982; 35:9-15.
9. Silva N, Igrejas G, Goncalvez A, Poeta P. **Commensal guts bacteria: distribution of *Enterococcus* species and prevalence of *Escherichia coli* phylogenetic groups in animals and humans in Portugal.** Annals de Microbiology. 2012;62:449-459
10. Moreno J.M. **Flora bacteriana intestinal.** An Pediatr,Monogr. 2006; 4(1):12-9
11. Guarner F. **El colon órgano: hábitat de la flora bacteriana.** Nutr. Hosp. 2002; XVII (Sup.2): 7-10.



12. Paredes F, Roca J. **Infecciones gastrointestinales**. Microbiología. 2004; 23:100-106.
13. Puerta A, Mateos F. **Enterobacterias**. Medicine. 2010; 10(51): 3426-31.
14. Patrick R. Murray Ken S. Rosenthal Michael A. Pfaller. **Microbiología Médica**. 5^{ta} Edición. Esapaña, Editorial Elsevier España S.A. 2007. pp: 323-325.
15. Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Winn W, Procop G, *et. al.* **Diagnóstico Microbiológico**. 6^{ta} Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana S.A. 2008; pp: 205-209.
16. Almirante B. **Infecciones por enterobacterias**. Medicine. 2002; 08 (64): 3385-97.
17. Koneman E, Allen S, Dowell V, Janda W, Winn W, Procop G, *et. al.* **Diagnóstico Microbiológico**. 6^{ta} Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana S.A. 2008. pp: 180-182.
18. Hernández E. **Escherichia coli productores de BLEE aislados de urocultivo: Implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria**. [Tesis doctorado]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2010.
19. Suárez C, Gudíol F. **Antibióticos betalactámicos**. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009; 27(02): 116-29.
20. Sacsquispe C.R. **Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión**/Elaboración: Rosa Sacsquispe Contreras y Jorge Velasquez Pomar. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002.
21. Clinical and Laboratory Standard Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Third Informational Supplement M100-S23**. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2013.
22. Seija V, Vignoli R. **Principales grupos de antibióticos**: En: Universidad de la República. Temas de Bacteriología y Virología médica. 2^a Edición. pp.631-637. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/>.
23. Navarro F, Miró E, Mirelis B. **Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias**. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010; 28(9): 638-645.



24. Alvarado J. **Antibióticos y Quimioterápicos**. 2da Edición, Perú, AMP Ediciones Apuntes Médicos del Perú.2006; pp: 34-36.
25. Vignoli R, Seija V. **Principales mecanismos de resistencia antibiótica**: En: Universidad de la República. Temas de Bacteriología y Virología médica. 2ª Edición.pp.640-662. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/>.
26. Coyle M. **Manual de Pruebas de Susceptibilidad**. Departments of Laboratory Medicine and Microbiology. University of Washington.2005.
27. Rossi F, Andreazzi D. **Resistencia Bacteriana, Interpretando el Antibiograma**. Sao Paulo-Rio de Janeiro.2006.
28. Rodriguez J. **Resistencia a los antibióticos: la evolución en acción**. Dendra Médica. Revista de Humanidades.2011;10(1):56-64.
29. Lahey Clinic. **β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes**. Burlington, MA: Lahey Clinic Foundation; 2013.
30. Bush K, Jacoby GA.**Updated functional classification of beta-lactamases**. Antimicrob Agents Chemother.2009; 54(3):969-76.
31. Lee JH, Bae IK. **New definitions of extended-spectrum β -lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance**. Med. Res. Rev. 2012; 32 (1):216-32.
32. Livermore DM. **Defining an extended-spectrum beta-lactamase**. Clin Microbiol Infect. 2008; 14 Suppl 1:3-10.
33. Casabonne C, Perez J, Balagué C, Fernández L. **Diversidad de β -lactamasas en aislamientos clínicos de enterobacterias**. Acta Bioquím Clín Latinoam.2012; 446(3):405-12.
34. Díaz M, Ramón J, Martínez L, Rodríguez J, Pascual A, Grupo de estudio de infección hospitalaria (GEIH). ***Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de β -lactamasas de**



- espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH-BLEE 2006).** Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica. 2009; 27(9):503-510.
35. Alvarez E, Zayas A, Castillo I, Gonzales L, Contreras R. **Detección de aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* productoras de β -lactamasas de espectro extendido mediante el sistema DIRAMIC.** Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2010; 41(3):195-199.
36. Martinez L. **Asociación de BLEE con otros mecanismos de resistencia.** Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25 Supl. 2: 38-47.
37. Del Valle D. **β -lactamasas tipo AmpC: generalidades y métodos para la detección fenotípica.** Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2009; 29:78-83.
38. Navarro F, Miro E. **Entorno genético de las BLEE: implicaciones en la transmisión.** Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25 Supl. 2:11-7.
39. Diestra K, Juan C, Curiao T, Moya B, Miro E, Oteo J, *et al.* **Caracterización del entorno genético de genes bla_{BLEE} y plásmidos asociados en cepas circulantes de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en España. [Tesis doctoral].** España: Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Biociencias. Departamento de Genética y de Microbiología. 2010.
40. Gonzales E. **Detección y caracterización molecular de metalo- β -lactamasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados en el Instituto Especializado Pediátrico de Lima-Perú [Tesis maestría].** Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.
41. Coque M. **Papel de los integrones en la resistencia a los agentes antimicrobianos.** Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005; 23(5):251-3.
42. Di Conza J, Gutkind G. **Integrones: los coleccionistas de genes.** Revista Argentina de Microbiología. 2010; 42:50944-101.
43. Gonzales G, Mella S, Zemelman R, Bello H, Dominguez Y. **Integrones y cassettes génicos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos.** 2004; 132:619-626.



44. Clinical and Laboratory Standard Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-third Informational Supplement M100-S23.** Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standard Institute; 2013.
45. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. **Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns.** Rev Infect Dis. 1988; 10(4):867-78.
46. Lezameta L, Gonzales E, Tamariz J. **Comparación de cuatro métodos fenotípicos para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido.** Rev. Perú Med Exp Salud Pública. 2010; 27(3): 345-51.
47. Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernandez F, Mirelis B. **Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gram negativos.** Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(7):524-534.
48. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. **Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamasas (ESBLs) in the community.** J. Antimicrob Chemother. 2005; 56(1):52-9.
49. Farinas M, Martinez L. **Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gram negativos no fermentadores.** Enferm Infecc Microbiol Clin. 2013; 31(6):402-409.
50. Pallecchi L, Malossi M, Mantella A, Gotuzzo E, Trigos C, Bartolini A, et al. **Detection of CTX-M-Type β -lactamase genes in fecal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Children in Bolivia and Peru.** Antimicrobial Agents Chemotherapy. 2004; 48(12):4556-4561.
51. Valverde A, Coque TM, Sanchez MP, Rollan A, Baquero F, Canton R. **Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* during Nonoutbreak Situations in Spain.** Journal of Clinical Microbiology. 2004; 42:4769–75.



52. López L, Pascual A. **Epidemiología de las BLEE en la comunidad: un problema emergente.** Enfer Infecc Microbiol Clin. 2007; 25 Supl. 2:23-8.
53. Vanhoof R, Gillis P, Stévant O, Boland C, Vandenberg O, Fux F, *et.al.* **Transmission of multiple resistant *Salmonella* Concord from internationally adopted children to their adoptive families and social environment: proposition of guidelines.** 2012; 31(4):4491-497.
54. Lohr IH, Rettedal S, Natas OB, Naseer U, Oymar K, Sundsfjord A. **Long-term faecal carriage in infants and intra-household transmission of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* following a nosocomial outbreak.** J Antimicrob Chemother. 2013; 68(5):1043-8.
55. Ostholm-Balkhed A, Tamberg M, Nilsson M, Nilsson LE, Hanberger H, Hallgren A. **Travel-associated faecal colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae: incidence and risk factors.** J Antimicrob chemother. 2013; 68(9):2144-53.
56. Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler T, *et.al.* **Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals.** J. Antimicrob Chemother. 2010; 65(4):651-60.
57. Johnson JR, Miller S, Johnston B, Clabots C, Debroy C. **Sharing of *Escherichia coli* sequence type ST131 and other multidrug-resistant and Urovirulent *E. coli* strains among dogs and cats within a household.** J. Clin Microbiol. 2009; 47(11):3721-5.
58. Tham J, alder M, Melander E, Odenholt I. **Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in food.** Infect Drug Resist. 2012; 5:143-7.
59. Schwaber MJ, Carmeli Y. **Mortality and delay in effective therapy associated with beta-lactamases in Enterobacteriaceae bacteremia spread spectrum production: a systematic review and meta-analysis.** J Antimicrob Chemother. 2007; 60: 913-920.



60. Luvsansharav UO, Hirai I, Nakata A, Imura K, Yamauchi K, *et al.* **Prevalence and risk factors associated with fecal carriage of CTX-M beta-lactamase Enterobacteriaceae that produce in rural communities of Thailand.** J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 1769-1774.
61. Abdul Rahman EM, El-Sherif RH. **High rates of intestinal colonization with beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae spread spectrum in healthy individuals.** J Investig Med. 2011; 59: 1284-1286.
62. Husickova V, Cekanova L, Chroma M, Htoutou-Sedlakova M, Hricova K, Kolar M, *et al.* **Carriage of ESBL-and AmpC-positive Enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract of community subjects and hospitalized patients in the Czech Republic.** Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2012; 156(4):348-53.
63. Andriatahina T, Randrianirina, Ratsima E, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson Y, *et al.* **High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar.** BMC Infectious Diseases. 2010; 10:204.
64. Woerther PL, Angebault C, Jacquier H, Hugede HC, Janssens AC, Sayadi S, *et al.* **Massive increase, spread, and exchange of extended β -lactamase–encoding genes among intestinal *Enterobacteriaceae* in hospitalized children with severe acute malnutrition in Niger.** Clin Infect Dis. 2011; 53(7): 677-85.
65. Pallecchi L, Bartolini A, Fiorelli C, Mantella A, Di Maggio T, Gamboa H, *et al.* **Rapid Dissemination and Diversity of CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase Genes in Commensal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Children from Low-Resource Settings in Latin America.** Antimicrob. Agents Chemother. 2007; 51(8):2720.
66. Abdurrahman K, Angamuthu K, Katapadi A. **Fecal carriage of Extended-Spectrum β -lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Patients and Asintomatic Healthy Individuals.** J Pediatr Inf. 2007; 5:54-8.



67. Abdurrahman K, Ener C, Zeynel A, Gul D, Neslihan T, Askin D, *et al.* **Prevalence and Risk Factors of Fecal of fecal carriage of Extended-Spectrum β -lactamase(ESBL)-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized and Ambulatory Children.** J Pediatr Inf. 2011; 5:54-8.
68. Birgi A, Cohen R, Levy C, Bidet P, Comoux M, Thollot F, *et al.* **Community fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in French children.** Infect Dis. 2012; 21; 12(1):315.
69. Minami K, Shoji Y, Kassai M, Ogiso Y, Nakamura T, Kawakami Y, *et.al.* **Proportion of rectal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the inpatients of a pediatric tertiary care hospital in Japan.** Jpn J Infect Dis. 2012; 65(6): 548-50.
70. Wickramasinghe NH, Xu L, Eustace A, Shabir S, Saluja T, Hawkey PM. **High community fecal carriage rates of CTX-M ESBL-producing *Escherichia coli* in a specific population group in Birmingham, UK.** J Antimicrob Chemother. 2012; 67(5):1108-13.
71. Romero CR. **Microbiología y Parasitología Humana.** 3^a Edición. México: Editorial Médica Panamericana; 2007.
72. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, *et al.* **Multiresistant bacteria extensively drug-resistant and resistant pandrug: international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance.** Clin Microbiol Infect. 2012; 18: 268-281.
73. Isendahl J, Turlej-Rogacka A, Manjuba C, Rodrigues A, Giske CG, *et al.* **Fecal Carriage of ESBL-Producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in Children in Guinea-Bissau: A Hospital-Based Cross-Sectional Study.** PlosOne. 2012; 7(12):e51981.



ANEXOS



Anexo N° 01

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FECHA: _____

DATOS GENERALES

Nro. de Ficha: _____ Código Interno: _____

Nro. H. Clínica: _____ Sexo: _____ Edad: _____

RESULTADO DEL CULTIVO:

Positivo: ☐

Negativo: ☐

BACTERIA AISLADA: _____

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS CEPAS EN ESTUDIO:

| ANTIBIOTICOS (DROGAS) | | Carga | Diámetro del halo (mm) | S | I | R |
|-----------------------------|-----|--------------|------------------------|---|---|---|
| Ceftazidima | CAZ | 30µg | | | | |
| Cefepime | FEP | 30µg | | | | |
| Cefotaxima | CTX | 30µg | | | | |
| Cefoxitina | FOX | 30µg | | | | |
| Amoxicilina/Ac. Clavulánico | AMC | 20/10µg | | | | |
| Acido Nalidixico | AN | 30µg | | | | |
| Imipenem | IPM | 10µg | | | | |
| Meropenem | MEN | 10µg | | | | |
| Gentamicina | GE | 10µg | | | | |
| Amikacina | AK | 30µg | | | | |
| Ciprofloxacina | CIP | 5µg | | | | |
| Sulfametoxazol/Trimetoprim | SXT | 23.75/1.25µg | | | | |
| Cloranfenicol | C | 30µg | | | | |

DETECCIÓN FENOTÍPICA DE LAS β-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO:

Positivo: ☐

Negativo: ☐

DETECCIÓN DEL GEN *bla*_{CTX-M} DE LAS β-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO:

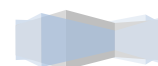
Positivo: ☐

Negativo: ☐



Anexo N° 02

Aislamiento de Enterobacterias recuperadas de una muestra de heces de un paciente ambulatorio. El desarrollo de estas colonias en el medio Karmali (contiene 32 µg/mL de cefoperazona, 20 µg /mL de vancomicina y 10 µg/mL de anfotericina B), sugiere una probable producción de BLEE al ser resistente a cefoperazona (cefalosporina de 3ra generación).

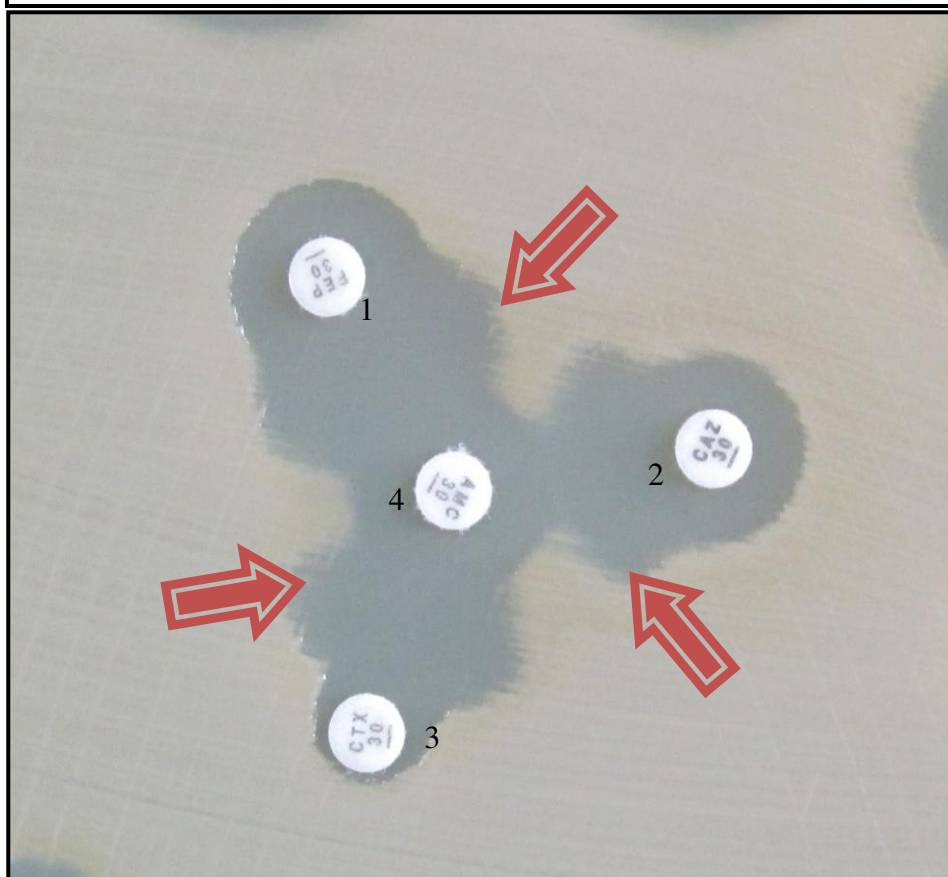


Anexo N° 03

Se observa el fenotipo BLEE, una ampliación del halo de inhibición en las cefalosporinas debido a la propiedad inhibitoria del ácido clavulánico sobre estas enzimas, ésto se considera una sinergia positiva.

Aislado de *E. coli* productora de β -lactamasa que presenta sinergia positiva entre las cefalosporinas y el ácido clavulánico.

Antibióticos: 1: cefepime (30 μ g); 2: ceftazidima (30 μ g);
3: cefotaxima (30 μ g); 4: amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 μ g).



Anexo N° 04

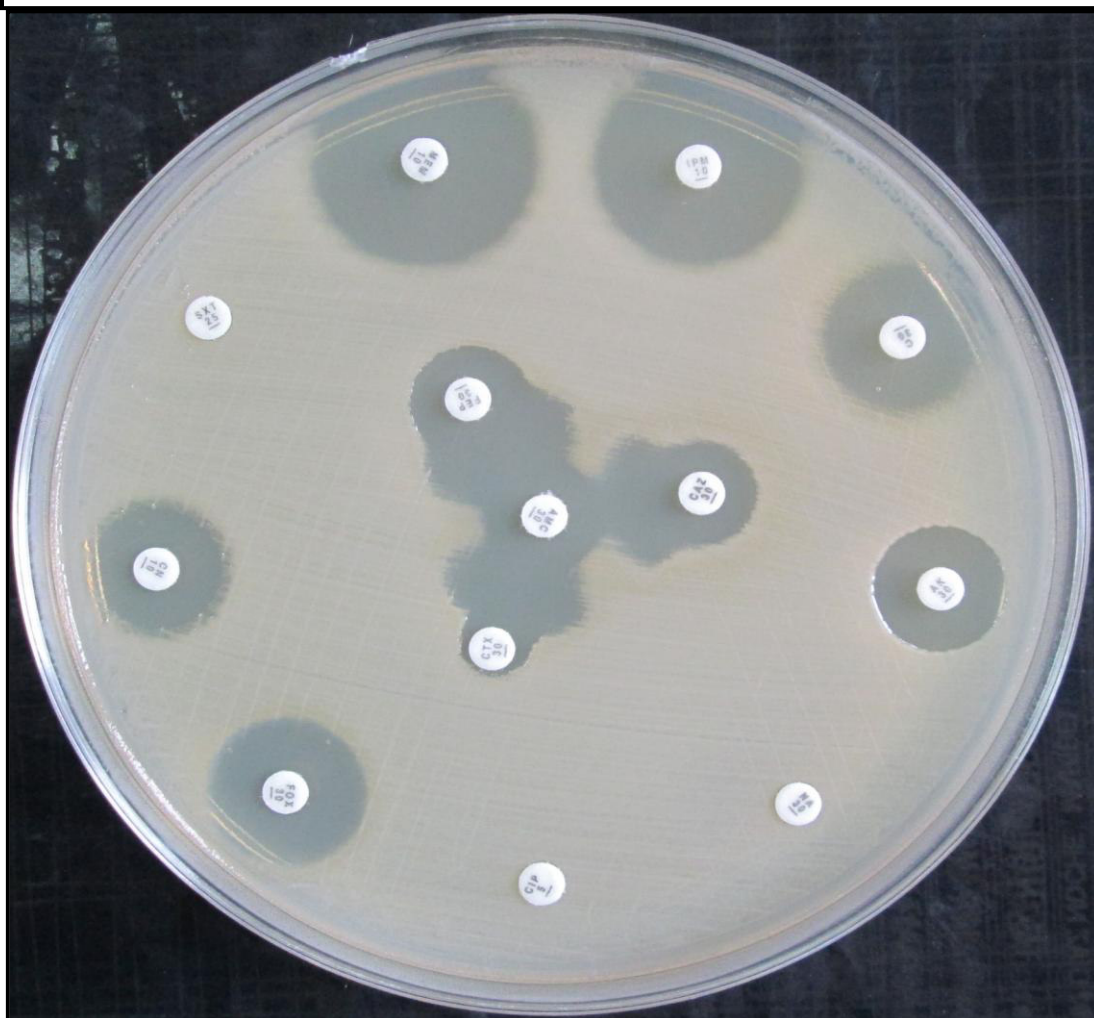
Aislado de *E. coli* no productora de β -lactamasa, no se observa sinergia entre las cefalosporinas y el ácido clavulánico.

Antibióticos: 1: cefepime (30 μ g); 2: ceftazidima (30 μ g);
3: cefotaxima (30 μ g); 4: amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 μ g).



Anexo N° 05

Aislamiento de *E. coli* recuperada de la muestra de heces #32 cuyo código de coprocultivo fue A-2622, presenta la prueba fenotípica positiva de la producción de β -lactamasas de espectro extendido, la cual se evidencia utilizando el método de Jarlier (método de sinergia del doble disco).



Anexo N° 06

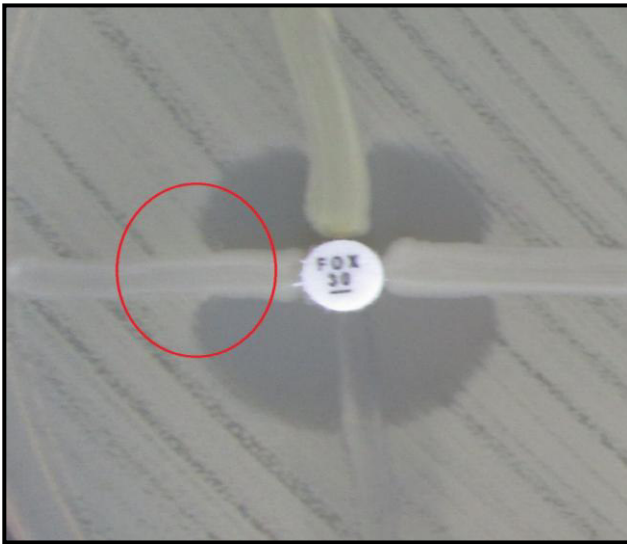
| Antibióticos y diámetros críticos para enterobacterias | | | | |
|--|---------------------|-------------|--------|-----|
| ANTIMICROBIANO | CONTENIDO DEL DISCO | DIÁMETRO mm | | |
| | | R | I | S |
| Amoxicilina - ácido clavulánico | 20 /10 µg | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Cefepima | 30 µg | ≤14 | 15-17 | ≥18 |
| Cefotaxima | 30 µg | ≤22 | 23-25 | ≥26 |
| Cefoxitina | 30 µg | ≤14 | 15-17 | ≥18 |
| Ceftazidima | 30 µg | ≤17 | 18-20 | ≥21 |
| Imipenem | 10 µg | ≤19 | 20-22 | ≥23 |
| Meropenem | 10 µg | ≤19 | 20-22 | ≥23 |
| Gentamicina | 10 µg | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| Amikacina | 30 µg | ≤14 | 15-16 | ≥17 |
| Ciprofloxacina | 5 µg | ≤20 | 21-30 | ≥31 |
| Ácido Nalidixico | 30 µg | ≤13 | 14-18 | ≥19 |
| Trimetoprim Sulfametoxazol | 1.25/ 23.75 µg | ≤10 | 11-15. | ≥16 |
| Cloranfenicol | 30 µg | ≤12 | 13-17 | ≥18 |

Fuente: CLSI 2013



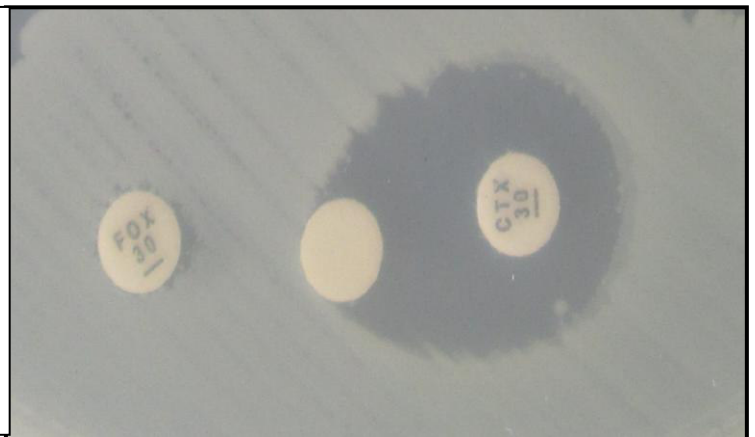
Anexo N° 07

De los aislados productores de BLEE, 6 (2,6%) aislados bacterianos mostraron un fenotipo de resistencia característico de la producción de β -lactamasas tipo AmpC y 1 (0,4%) aislado bacteriano sólo mostró el fenotipo AmpC (muestra #20).



Aislamiento de *E. coli* recuperada de muestra de heces, que presenta el método de Hodge positivo, sospechoso de la producción de AmpC.

Método confirmatorio de la producción de β -lactamasa tipo AmpC, con la prueba de sinergia con discos de ácido 3-aminofenil borónico (AFB), cefoxitina (FOX) y cefotaxima (CTX).



Anexo N° 08: Aislamientos. Datos epidemiológicos y perfil de sensibilidad a antibióticos

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 2331 | 19/07/2012 | CE | 19S | 27S | 31S | 29S | 21S | 20S | 21S | 31S | 24S | 20S | 24S | 12R |
| 2401 | 27/07/2012 | SEP | 6R | 6R | 33S | 30S | 24S | 21S | 6R | 6R | 22S | 16I | 25S | 10R |
| 2435 | 02/08/2012 | CE | 6R | 6R | 34S | 31S | 26S | 19S | 6R | 6R | 24S | 18S | 16R | 8R |
| 2442 | 02/08/2012 | CE | 8R | 6R | 32S | 30S | 23S | 20S | 6R | 6R | 21S | 16I | 12R | 6R |
| 2453 | 03/08/2012 | CE | 15S | 9R | 35S | 30S | 6R | 18S | 6R | 6R | 24S | 18S | 24S | 13R |
| 2454 | 03/08/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 30S | 11R | 20S | 6R | 6R | 14R | 14R | 12R | 6R |
| 2462 | 04/08/2012 | CE | 6R | 6R | 34S | 30S | 27S | 22S | 6R | 6R | 22S | 12R | 27S | 10R |
| 2463 | 04/08/2012 | CE | 19S | 6R | 30S | 28S | 6R | 17S | 6R | 6R | 21S | 13R | 11R | 6R |
| 2483 | 06/08/2012 | E | 6R | 6R | 30S | 30S | 17I | 23S | 6R | 6R | 16I | 10R | 8R | 6R |
| 2489 | 07/08/2012 | CE | 6R | 6R | 33S | 30S | 6R | 19S | 6R | 6R | 20S | 14R | 15R | 6R |
| 2491 | 07/08/2012 | E | 13I | 6R | 34S | 30S | 26S | 22S | 19S | 31S | 21S | 16I | 23S | 6R |
| 2494 | 07/08/2012 | SEP | 6R | 6R | 30S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 21S | 15I | 20I | 10R |
| 2506 | 08/08/2012 | CE | 6R | 6R | 34S | 30S | 6R | 21S | 6R | 6R | 19S | 17I | 15R | 8R |
| 2534 | 11/08/2012 | CE | 11R | 6R | 33S | 28S | 6R | 21S | 6R | 7R | 25S | 22S | 24S | 12R |
| 2535 | 11/08/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 29S | 20S | 19S | 6R | 6R | 21S | 14R | 12R | 6R |
| 2540 | 11/08/2012 | E | 6R | 6R | 32S | 30S | 15I | 21S | 6R | 6R | 14R | 12R | 14R | 6R |
| 2554 | 12/08/2012 | E | 11R | 6R | 32S | 29S | 6R | 22S | 6R | 6R | 24S | 22S | 24S | 15R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 2567 | 14/08/2012 | E | 19S | 6R | 32S | 28S | 22S | 22S | 6R | 10R | 6R | 30S | 14R | 16R |
| 2569 | 14/08/2012 | CE | 10R | 6R | 37S | 30S | 6R | 22S | 6R | 6R | 28S | 20S | 27S | 12R |
| 2570 | 14/08/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 28S | 30S | 20S | 6R | 22I | 27S | 11R | 19I | 6R |
| 2587 | 15/08/2012 | CE | 18S | 6R | 32S | 29S | 22S | 21S | 6R | 10R | 22S | 18S | 13R | 8R |
| 2595 | 15/08/2012 | CE | 7R | 7R | 35S | 30S | 25S | 19S | 6R | 6R | 23S | 17I | 15R | 9R |
| 2596 | 15/08/2012 | CE | 7R | 6R | 33S | 30S | 19S | 21S | 6R | 6R | 15I | 12R | 11R | 6R |
| 2602 | 16/08/2012 | SEP | 7R | 7R | 34S | 30S | 23S | 21S | 6R | 6R | 21S | 18S | 15R | 8R |
| 2605 | 16/08/2012 | CE | 20S | 6R | 32S | 27S | 22S | 20S | 16I | 18R | 6R | 15I | 12R | 6R |
| 2611 | 17/08/2012 | E | 6R | 6R | 33S | 28S | 22S | 18S | 6R | 6R | 23S | 18S | 15R | 10R |
| 2620 | 17/08/2012 | CE | 6R | 6R | 33S | 29S | 6R | 21S | 6R | 28I | 25S | 21S | 24S | 13R |
| 2622 | 17/08/2012 | E | 18S | 6R | 32S | 26S | 20S | 17S | 6R | 6R | 21S | 14R | 13R | 6R |
| 2625 | 18/08/2012 | CE | 11R | 24S | 33S | 28S | 6R | 21S | 25S | 37S | 24S | 22S | 24S | 12R |
| 2627 | 18/08/2012 | CE | 13R | 6R | 37S | 33S | 6R | 27S | 6R | 32S | 26S | 27S | 26S | 12R |
| 2629 | 18/08/2012 | E | 23S | 6R | 36S | 33S | 26S | 26S | 6R | 12R | 25S | 7R | 24S | 6R |
| 2657 | 21/08/2012 | CE | 7R | 6R | 32S | 28S | 6R | 22S | 12R | 22I | 21S | 16I | 21S | 7R |
| 2663 | 21/08/2012 | E | 21S | 6R | 33S | 28S | 18S | 20S | 6R | 6R | 20S | 17I | 21S | 15R |
| 2669 | 22/08/2012 | SEP | 6R | 6R | 32S | 28S | 26S | 20S | 16I | 16R | 25S | 21S | 17R | 10R |
| 2671 | 22/08/2012 | CE | 6R | 6R | 33S | 28S | 24S | 17S | 6R | 6R | 23S | 17I | 17R | 8R |
| 2691 | 23/08/2012 | CE | 12R | 6R | 33S | 30S | 6R | 23S | 12R | 23I | 26S | 24S | 25S | 10R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 2702 | 24/08/2012 | CE | 22 | 6R | 30S | 25S | 25S | 22S | 6R | 9R | 6R | 12R | 10R | 7R |
| 2713 | 26/08/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 28S | 6R | 21S | 6R | 26I | 26S | 22S | 24S | 13R |
| 2719 | 27/08/2012 | SEP | 9R | 31S | 32S | 29S | 6R | 20S | 6R | 6R | 22S | 23S | 24S | 19R |
| 2738 | 29/08/2012 | CE | 11R | 6R | 32S | 29S | 6R | 23S | 6R | 25I | 26S | 23S | 26S | 12R |
| 2746 | 29/08/2012 | CE | 24S | 6R | 37S | 34S | 23S | 24S | 6R | 10R | 29S | 19S | 23S | 14R |
| 2751 | 29/08/2012 | CE | 21S | 6R | 32S | 30S | 22S | 22S | 6R | 6R | 22S | 17I | 24S | 14R |
| 2762 | 31/08/2012 | CE | 6R | 6R | 30S | 27S | 9R | 20S | 6R | 6R | 20S | 12R | 6R | 8R |
| 2777 | 01/09/2012 | CE | 21S | 6R | 31S | 28S | 21S | 22S | 6R | 6R | 20S | 8R | 18I | 6R |
| 2802 | 04/09/2012 | CE | 21S | 6R | 36S | 32S | 8R | 22S | 6R | 6R | 25S | 20S | 7R | 18R |
| 2895 | 13/09/2012 | SEP | 20S | 6R | 31S | 29S | 6R | 21S | 6R | 6R | 22S | 15I | 14R | 6R |
| 2906 | 14/09/2012 | CE | 7R | 30S | 31S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 17I | 32S | 22S | 12R |
| 2908 | 14/09/2012 | CE | 21S | 6R | 34S | 30S | 18S | 21S | 6R | 6R | 19S | 13R | 19I | 7R |
| 2956 | 21/09/2012 | E | 18S | 6R | 33S | 30S | 6R | 19S | 6R | 20R | 25S | 15I | 23S | 8R |
| 2958 | 21/09/2012 | E | 7R | 6R | 34S | 28S | 6R | 21S | 6R | 26S | 6R | 12R | 9R | 6R |
| 2979 | 23/09/2012 | E | 6R | 13I | 32S | 31S | 24S | 8R | 21S | 30I | 21S | 18S | 6R | 13R |
| 2990 | 24/09/2012 | CE | 18S | 6R | 32S | 27S | 20S | 20S | 6R | 6R | 21S | 18S | 24S | 15R |
| 3006 | 26/09/2012 | E | 7R | 6R | 27S | 26S | 7R | 18S | 7R | 7R | 20S | 13R | 6R | 6R |
| 3008 | 26/09/2012 | E | 6R | 29S | 32S | 30S | 24S | 19S | 6R | 6R | 24S | 15I | 14R | 9R |
| 3025 | 27/09/2012 | E | 10R | 6R | 31S | 28S | 6R | 21S | 6R | 27I | 23S | 22S | 24S | 13R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 3044 | 01/10/2012 | E | 10R | 6R | 33S | 28S | 6R | 21S | 14I | 21I | 23S | 22S | 23S | 12R |
| 3047 | 01/10/2012 | E | 13I | 6R | 32S | 29S | 6R | 17S | 6R | 6R | 22S | 17I | 24S | 12R |
| 3056 | 03/10/2012 | E | 6R | 6R | 31S | 27S | 27S | 17S | 17I | 16R | 24S | 17I | 16R | 10R |
| 3058 | 03/10/2012 | E | 14I | 6R | 34S | 28S | 6R | 21S | 6R | 8R | 6R | 33S | 18S | 18R |
| 3071 | 05/10/2012 | E | 20S | 29S | 26S | 24S | 22S | 22S | 19S | 34S | 6R | 19S | 6R | 6R |
| 3081 | 07/10/2012 | E | 19S | 6R | 32S | 28S | 23S | 21S | 6R | 25I | 23S | 18S | 25S | 13R |
| 3117 | 16/10/2012 | CE | 19S | 6R | 35S | 31S | 22S | 21S | 13R | 24I | 25S | 17I | 22S | 13R |
| 3121 | 17/10/2012 | E | 6R | 6R | 31S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 24S | 13R | 20I | 8R |
| 3131 | 19/10/2012 | E | 6R | 6R | 30S | 27S | 18S | 18S | 6R | 6R | 23S | 15I | 13R | 10R |
| 3132 | 19/10/2012 | E | 8R | 6R | 32S | 29S | 6R | 19S | 14I | 21I | 24S | 22S | 24S | 13R |
| 3138 | 20/10/2012 | CE | 9R | 6R | 33S | 29S | 6R | 20S | 6R | 6R | 23S | 18S | 23S | 12R |
| 3166 | 23/10/2012 | E | 7R | 6R | 31S | 28S | 6R | 18S | 6R | 6R | 20S | 20S | 22S | 11R |
| 3173 | 24/10/2012 | CE | 19S | 6R | 32S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 6R | 12R | 11R | 6R |
| 3190 | 25/10/2012 | E | 6S | 6R | 30S | 30S | 6R | 17S | 6R | 6R | 20S | 13R | 12R | 6R |
| 3191 | 26/10/2012 | E | 19S | 6R | 31S | 26S | 23S | 20S | 12R | 23I | 24S | 17I | 21S | 11R |
| 3192 | 26/10/2012 | E | 8R | 6R | 31S | 29S | 23S | 20S | 6R | 6R | 21S | 15I | 15R | 7R |
| 3196 | 26/10/2012 | CE | 11R | 27S | 31S | 28S | 6R | 23S | 21S | 33S | 22S | 21S | 23S | 13R |
| 3197 | 26/10/2012 | SEP | 19S | 12I | 30S | 26S | 21S | 20S | 23S | 32S | 25S | 15I | 13R | 7R |
| 3226 | 29/10/2012 | CE | 7R | 6R | 33S | 29S | 22S | 18S | 6R | 6R | 23S | 14R | 16R | 15R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 3243 | 30/10/2012 | CE | 9R | 6R | 33S | 30S | 25S | 20S | 6R | 6R | 26S | 21S | 20I | 12R |
| 3248 | 30/10/2012 | SEP | 10R | 6R | 32S | 29S | 6R | 21S | 6R | 6R | 22S | 14R | 22S | 8R |
| 3250 | 30/10/2012 | CE | 19S | 13I | 32S | 30S | 16I | 13R | 6R | 6R | 21S | 17I | 17R | 10R |
| 3251 | 30/10/2012 | E | 18S | 6R | 31S | 29S | 17I | 19S | 6R | 6R | 23S | 17I | 15R | 9R |
| 3253 | 30/10/2012 | E | 18S | 6R | 32S | 28S | 6R | 21S | 6R | 11R | 24S | 15I | 16R | 8R |
| 3258 | 31/10/2012 | CE | 12R | 6R | 32S | 28S | 6R | 17S | 6R | 6R | 24S | 11R | 19I | 6R |
| 3262 | 31/10/2012 | E | 19S | 6R | 30S | 26S | 9R | 20S | 6R | 9R | 8R | 16I | 15R | 11R |
| 3293 | 05/11/2012 | E | 19S | 17S | 27S | 29S | 21S | 21S | 22S | 32S | 23S | 16I | 24S | 15R |
| 3307 | 06/11/2012 | CE | 18S | 29S | 31S | 29S | 24S | 18S | 6R | 6R | 23S | 15I | 14R | 8R |
| 3309 | 06/11/2012 | CE | 19S | 6R | 31S | 29S | 6R | 20S | 6R | 6R | 20S | 13R | 6R | 6R |
| 3312 | 07/11/2012 | CE | 19S | 6R | 30S | 26S | 25S | 20S | 6R | 10R | 25S | 14R | 19I | 8R |
| 3320 | 07/11/2012 | E | 6R | 6R | 32S | 29S | 25S | 21S | 6R | 6R | 23S | 15I | 24S | 11R |
| 3321 | 07/11/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 29S | 6R | 20S | 6R | 6R | 23S | 14I | 21S | 8R |
| 3345 | 08/11/2012 | CE | 18S | 27S | 29S | 27S | 20S | 19S | 22S | 30I | 20S | 16I | 23S | 15R |
| 3346 | 08/11/2012 | CE | 6R | 6R | 32S | 29S | 6R | 20S | 6R | 6R | 20S | 10R | 21S | 8R |
| 3377 | 12/11/2012 | CE | 17S | 6R | 33S | 27S | 23S | 19S | 21S | 28I | 23S | 15I | 14R | 8R |
| 3378 | 12/11/2012 | E | 17S | 6R | 30S | 26S | 25S | 20S | 6R | 6R | 22S | 12R | 20I | 10R |
| | | | 11R | 25S | 33S | 29S | 6R | 22S | 6R | 29I | 23S | 19S | 20I | 9R |
| 3412 | 15/11/2012 | E | 10R | 6R | 32S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 22S | 16I | 23S | 13R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|----------|------------|------------|-----------|------------|----------|-----------|------------|------------|------------|-----------|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 3423 | 16/11/2012 | CE | 7R | 6R | 30S | 28S | 18S | 23S | 6R | 6R | 23S | 13R | 15R | 18R |
| 3430 | 17/11/2012 | E | 7R | 6R | 29S | 26S | 23S | 17S | 14I | 15R | 23S | 14R | 14R | 13R |
| 3450 | 19/11/2012 | CE | 11R | 6R | 30S | 28S | 24S | 20S | 6R | 10R | 21S | 14R | 20I | 10R |
| 3459 | 20/11/2012 | E | 19S | 6R | 33S | 30S | 25S | 19S | 6R | 6R | 24S | 12R | 14R | 10R |
| 3466 | 21/11/2012 | E | 19S | 28S | 33S | 30S | 25S | 20S | 23S | 34S | 24S | 16I | 20I | 13R |
| 3473 | 21/11/2012 | E | 19S | 25S | 32S | 29S | 23S | 20S | 6R | 9R | 21S | 15I | 14R | 9R |
| 3482 | 22/11/2012 | E | 9R | 6R | 32S | 29S | 6R | 20S | 25S | 32S | 21S | 14R | 12R | 10R |
| 3483 | 22/11/2012 | E | 6R | 6R | 29S | 28S | 22S | 17S | 6R | 6R | 22S | 13R | 11R | 8R |
| 3488 | 23/11/2012 | CE | 15S | 6R | 31S | 30S | 10R | 20S | 6R | 6R | 24S | 17I | 22S | 15R |
| 3489 | 23/11/2012 | CE | 18S | 21S | 31S | 28S | 24S | 19S | 6R | 6R | 22S | 14R | 13R | 10R |
| 3490 | 23/11/2012 | CE | 20S | 6R | 33S | 31S | 6R | 21S | 6R | 11R | 25S | 12R | 18I | 7R |
| 3492 | 23/11/2012 | E | 10R | 6R | 31S | 28S | 6R | 21S | 21S | 33S | 25S | 16I | 21S | 10R |
| 3494 | 23/11/2012 | CE | 9R | 6R | 30S | 27S | 22S | 19S | 6R | 6R | 21S | 18S | 16R | 9R |
| 3517 | 27/11/2012 | E | 22S | 6R | 30S | 25S | 15I | 21S | 6R | 10R | 7R | 18S | 22S | 11R |
| 3526 | 27/11/2012 | E | 6R | 6R | 34S | 31S | 25S | 21S | 6R | 10R | 21S | 14R | 22S | 12R |
| 3527 | 27/11/2012 | CE | 13I 8R | 6R 6R | 33S 30S | 31S 26S | 6R 15I | 24S 17S | 6R 6R | 28I 6R | 20S 15I | 22S 14R | 24S 11R | 10R 6R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 3528 | 27/11/2012 | SEP | 18S | 6R | 28S | 26S | 20S | 19S | 6R | 6R | 18S | 11R | 16R | 7R |
| 3533 | 28/11/2012 | CE | 9R | 6R | 30S | 27S | 23S | 17S | 6R | 6R | 23S | 15I | 14R | 9R |
| 3534 | 28/11/2012 | CE | 19S | 6R | 30S | 26S | 22S | 21S | 20S | 25I | 24S | 18S | 21S | 12R |
| 3538 | 28/11/2012 | CE | 8R | 6R | 30S | 27S | 29S | 17S | 6R | 6R | 22S | 16I | 14R | 8R |
| 3539 | 28/11/2012 | CE | 19S | 14I | 30S | 26S | 18S | 17S | 6R | 6R | 20S | 16I | 14R | 10R |
| 3565 | 30/11/2012 | CE | 18S | 29S | 31S | 29S | 22S | 21S | 12R | 27I | 22S | 18S | 23S | 14R |
| 3566 | 30/11/2012 | SEP | 6R | 6R | 32S | 29S | 15I | 20S | 6R | 6R | 24S | 16I | 24S | 14R |
| 3569 | 30/11/2012 | SEP | 6R | 6R | 30S | 29S | 6R | 20S | 6R | 22I | 22S | 24S | 30S | 16R |
| 3572 | 30/11/2012 | CE | 8R | 6R | 32S | 30S | 14I | 19S | 6R | 6R | 22S | 14R | 16R | 8R |
| 3575 | 01/12/2012 | CE | 6R | 6R | 31S | 27S | 21S | 16I | 7R | 6R | 20S | 14R | 14R | 8R |
| 3576 | 01/12/2012 | CE | 19S | 6R | 30S | 29S | 6R | 19S | 7R | 18R | 24S | 18S | 15R | 11R |
| 3610 | 05/12/2012 | SEP | 20S | 30S | 32S | 28S | 23S | 21S | 6R | 28I | 9R | 18S | 18I | 13R |
| 3616 | 05/12/2012 | E | 7R | 6R | 31S | 28S | 26S | 20S | 6R | 11R | 24S | 14R | 20I | 8R |
| 3624 | 06/12/2012 | E | 17S | 6R | 29S | 26S | 14I | 16I | 10R | 9R | 20S | 16I | 12R | 8R |
| 3626 | 07/12/2012 | E | 10R | 6R | 31S | 28S | 6R | 19S | 6R | 18R | 22S | 20S | 22S | 8R |
| 3638 | 07/12/2012 | CE | 18S | 6R | 32S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 21S | 18S | 22S | 13R |
| 3646 | 09/12/2012 | SEP | 20S | 6R | 33S | 31S | 6R | 20S | 6R | 6R | 23S | 19S | 18I | 13R |
| 3648 | 09/12/2012 | E | 7R | 6R | 31S | 29S | 19S | 18S | 6R | 6R | 23S | 16I | 14R | 10R |
| 3657 | 10/12/2012 | CE | 7R | 6R | 32S | 30S | 21S | 21S | 6R | 6R | 20S | 18S | 16R | 11R |

Enterobacterias productoras de BLEE en muestras fecales en el INSN-2013

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 3659 | 10/12/2013 | CE | 8R | 6R | 32S | 29S | 22S | 19S | 6R | 6R | 23S | 17I | 15R | 10R |
| 3666 | 11/12/2013 | CE | 11R | 6R | 32S | 27S | 6R | 22S | 6R | 9R | 26S | 22S | 23S | 12R |
| 3675 | 11/12/2013 | SEP | 12R | 6R | 33S | 30S | 6R | 22S | 6R | 31S | 24S | 21S | 21S | 8R |
| 3685 | 13/12/2013 | CE | 21S | 6R | 32S | 30S | 23S | 21S | 25S | 40S | 24S | 18S | 22S | 13R |
| 3694 | 14/12/2013 | E | 10R | 31S | 31S | 30S | 6R | 21S | 11R | 28I | 25S | 17I | 21S | 10R |
| 3697 | 14/12/2013 | E | 17S | 6R | 31S | 29S | 6R | 17S | 6R | 6R | 14R | 12R | 12R | 6R |
| 3749 | 20/12/2013 | CE | 18S | 22S | 32S | 30S | 6R | 20S | 6R | 6R | 19S | 15I | 19I | 9R |
| 3751 | 20/12/2012 | E | 7R | 6R | 30S | 29S | 16I | 18S | 6R | 6R | 14R | 11R | 12R | 6R |
| 3814 | 28/12/2012 | CE | 21S | 6R | 34S | 31S | 26S | 22S | 14I | 26I | 26S | 20S | 25S | 14R |
| 8 | 02/01/2013 | E | 20S | 6R | 32S | 31S | 13I | 20S | 6R | 6R | 21S | 16I | 19I | 10R |
| 15 | 03/01/2013 | E | 8R | 6R | 31S | 29S | 22S | 17S | 6R | 6R | 23S | 14R | 13R | 7R |
| 17 | 03/01/2013 | CE | 10R | 24S | 33S | 30S | 6R | 21S | 25S | 36S | 22S | 20S | 24S | 12R |
| 18 | 03/01/2013 | CE | 12R | 6R | 31S | 28S | 6R | 16I | 6R | 6R | 22S | 17I | 25S | 12R |
| 27 | 04/01/2013 | E | 17S | 6R | 30S | 27S | 6R | 16I | 6R | 6R | 17I | 11R | 14R | 6R |
| 32 | 04/01/2013 | CE | 7R | 11I | 34S | 31S | 6R | 21S | 6R | 6R | 24S | 16I | 23S | 12R |
| 56 | 07/01/2013 | CE | 10R | 18S | 30S | 26S | 6R | 22S | 6R | 11R | 21S | 15I | 21S | 10R |
| 73 | 08/01/2013 | E | 18S | 25S | 32S | 29S | 22S | 19S | 6R | 6R | 22S | 15I | 15R | 7R |
| 75 | 08/01/2013 | E | 18S | 14I | 30S | 28S | 6R | 20S | 6R | 6R | 21S | 14R | 19I | 7R |
| 78 | 08/01/2013 | E | 6R | 6R | 31S | 25S | 6R | 21S | 6R | 11R | 24S | 24S | 28S | 16R |
| 82 | 09/01/2013 | CE | 17S | 27S | 31S | 27S | 25S | 18S | 22S | 31R | 24S | 18S | 25S | 18R |

| Aislamientos (Identificación) | Fecha de aislamiento | Lugar de aislamiento | Sensibilidad de antibióticos (interpretación según CLSI 2013) | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | Ge | SXT | MER | IMI | C | AK | NA | CIP | FOX | FEP | CAZ | CTX |
| 92 | 10/01/2013 | E | 9R | 6R | 31S | 27S | 14I | 19S | 6R | 6R | 20S | 15I | 14R | 9R |
| 96 | 10/01/2013 | SEP | 17S | 24S | 32S | 28S | 6R | 18S | 6R | 6R | 22S | 26S | 20I | 9R |
| 100 | 10/01/2013 | E | 6R | 6R | 32S | 31S | 21S | 21S | 6R | 10R | 22S | 17I | 22S | 12R |

Lugar de aislamiento: CE: consultorio externo; SEP: consultorio externo de la clínica del INSN; E: emergencia

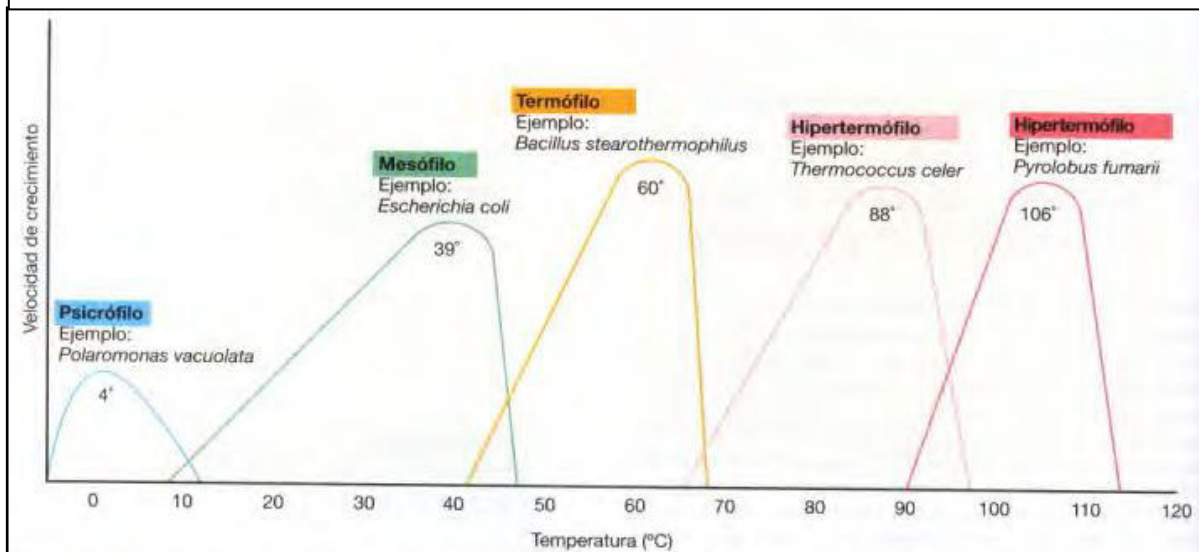
Tipo de muestra : Heces

Antibióticos : Ge: gentamicina; STX: sulfametoxazol/trimetoprim; MER: meropenem; IMI: imipenem;
C: cloranfenicol; AK: amikacina; NA: ácido nalidíxico; CIPRO: ciprofloxacina; FOX: cefoxitin;
FEP: cefepime; CAZ: ceftazidime; CTX: cefotaxima.

Interpretación : S: sensible; I: intermedio; R: resistente.

Anexo N° 09

Relación entre la temperatura y las velocidades de crecimiento de psicrófilos, mesófilos, termófilos y los hipertermófilos. En cada caso se indican las temperaturas óptimas de los microorganismos respectivos.



Fuente: Romero C.R. Microbiología y Parasitología Humana. 2007.

